

Aus der Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Transplantationschirurgie
des Klinikums Augsburg
Akademisches Lehrkrankenhaus der Ludwig – Maximilians – Universität München
Direktor: Professor Dr. med. Matthias Anthuber

Perioperatives Immuno-Monitoring von Patienten mit operationspflichtiger intraabdomineller Infektion mittels EAA-Endotoxin-Test – Vergleich mit etablierten Biomarkern

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Osman Erez
aus Augsburg

2019

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. Eugen Faist
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. Thomas Hoffmann
Mitbetreuung durch den promovierten Mitarbeiter:	Dr. med. Bernd Geissler, Professor Dr. med. Matthias Anthuber
Dekan:	Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel
Tag der mündlichen Prüfung:	23.05.2019

Abkürzungsverzeichnis

ACCP	American College of Chest Physicians
ANOVA	Analysis of variance
APACHE	Acute Physiology, Age, Chronic Health Evaluation
APS	Acute Physiology Score
AUC	Area under the curve
BNP	Brain Natriuretic Peptide
CARS	Compensatory Anti-inflammation Response Syndrome
CD14	Cluster of Differentiation
cGMP	Cyclisches Guanosinmonophosphat
COPD	Chronische Obstruktive Bronchitis
CRP	C-reaktives Protein
DAMP	Damage associated molecular patterns
DC	Dendritische Zellen
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DSG	Deutsche Sepsis-Gesellschaft
EAA [™]	Endotoxin-Aktivitätsassay
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
FACS	Scan Fluorescence Activated Cell Separation
FSC	Vorwärtsstreulicht
GCS	Glasgow Coma Scale
HLA-DR	humanes Leukozytenantigen DR
HMGB-1	High-mobility group protein B1
IFN	Interferon

Ig	Immunglobulin
IKK	Inhibitor of Nuclear Factor-KappaB-Kinase
IL	Interleukin
IL-6	Interleukin-6
IRAK	IL-1R-associated Kinase
KHK	Koronare Herzkrankheit
LBP	LPS-bindendes Protein
LPS	Lipopolysaccharid
LRR	Leucinreiche Repeats
LTA	Lipoteichonsäure
MAP	Mittlerer arterieller Blutdruck
MFI	Mean Fluorescence Intensity
MIF	Makrophagen Migration Inhibition Factor
MODS	Multiorgandysfunktionssyndrom
MYD88	Myeloid Differentiation Primary-Response Protein 88
NFkappaB	Nuclear Factor KappaB
NT-proBNP	N-terminales Propeptid BNP
PAMP	Pathogen Associated Molecular Patterns
PCT	Procalcitonin
PMN	Polymorphonukleare Zellen
PRR	Pattern Recognition Receptors
RLU	Relative Light Units
ROC-Kurve	Receiver-Operating-Characteristic-Kurve
RPM	Revolutions per minute
rs	Spearman's Rangkorrelationskoeffizient (Spearman's Rho)
SCCM	Society of Critical Care Medicine
S/esRAGE	endogenous secretory receptor of advanced glycation endproducts

SIRS	Systemic Inflammatory Response Syndrome
SSC	Seitwärtsstreulicht
TAB	TAK1-binding Protein
TAK	Transforming-growth-factor-beta-activated Kinase
TH-Zellen	T-Helferzellen
TIR	Toll/IL1-Rezeptor
TLR	Toll-like Rezeptor
TLR4	Toll-like Rezeptor 4
TNF	Tumornekrosefaktor
t-PA	Tissue plasminogen activator
TRAF	Tumor-necrosis-factor-receptor-associated Factor

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung und Fragestellung	12
1.1	Geschichte der Sepsis	12
1.1.1	Sepsis.....	12
1.1.2	Mikrobiologie.....	12
1.1.3	Endotoxin	13
1.1.4	Zytokine	13
1.2	Definition.....	14
1.3	Epidemiologie und Inzidenz.....	15
1.3.1	Erregerspektrum	17
1.4	Pathogenese und Pathophysiologie	18
1.4.1	Endotoxin	19
1.4.2	Wirkungen des Endotoxins auf den Organismus	20
1.4.3	Endotoxinwirkung auf die Hämodynamik.....	21
1.4.3	Endotoxinwirkung auf das plasmatische Gerinnungssystem	21
1.4.4	Immundysbalance mit biphasischem Verlauf der inflammatorischen Reaktion.....	21
1.4.5	Die regulatorische Rolle der T- Zellen	23
1.4.6	Auslösung der inflammatorischen Antwort.....	25
2	Operatives Trauma und postoperative Immunsuppression	27
2.1	Pathophysiologie der postoperativen Immunsuppression	28
3	Diagnose	31
3.1.1	Entzündungsparameter und potentielle Sepsismarker	35
3.1.1.1	Das C-reaktive Protein (CRP).....	35
3.1.1.2	Interleukin 6 (IL-6)	36
3.1.1.3	PCT	37
3.1.1.4	High-Mobility-Group-Protein B1 (HMGB1)	38
3.1.1.5	Lipopolysaccharid-bindendes Protein (LBP).....	39
3.1.1.6	Lipopolysaccharid (Endotoxin).....	39
3.1.1.7	Laktat	40
3.1.1.8	Copeptin	40
3.1.1.9	NT-proBNP	40
3.1.1.10	Neopterin	41
3.2	Chirurgische und antibiotische Therapie und dadurch induzierte Endotoxinämie....	42
4	Fragestellung und Ziel der Arbeit.....	44

5	Material und Methodik	45
5.1	Studiendesign und Patientenkollektiv	45
5.1.1	Zeitraum der Datenerhebung	45
5.1.2	Übersicht des Beobachtungszeitraumes:	46
5.2	Der Endotoxin Aktivitätsassay (EAA TM)	46
5.2.1	Materialien	48
5.2.1.1	Luminometer	49
5.2.1.2	Reaktionsröhrchen	49
5.2.1.3	Kreisschüttler-Inkubator	49
5.3	Durchführung der Lumineszenzreaktion und Messung der RLU	50
5.3.1	Probenvorbereitung	50
5.3.1.1	Erster Pipettierschritt und erste Inkubation	51
5.3.1.2	Zweiter Pipettierschritt und zweite Inkubation	51
5.3.1.3	Pipettierschema	51
5.3.2	Messung der RLU	52
5.3.3	Interpretation der EAA [®] -Ergebnisse	56
5.3.3.1	Festlegung des Schwellenwertes für niedrige Endotoxinaktivität	56
5.3.3.2	Determinierung der Intervallgrenzen für mittlerer und hoher Endotoxinaktivität	57
5.4	Erhebung der Daten mittels Verfahren zur Risikostratifizierung von kritisch kranken Patienten	61
5.4.1	Acute Physiology and Chronic Health Evaluation Score II (APACHE II)	61
5.4.1.1	Physiologische Parameter	62
5.4.1.2	Bewertung des Patientenalters	63
5.4.1.3	Bewertung der Anamnese	63
5.4.1.4	Auswertung des Scores	63
6	Ergebnisse	64
6.1	Allgemeines	64
6.1.1	Demographische Daten der Patienten	64
6.2	Analyse der Daten	68
6.2.1	Receiver Operating Characteristic (ROC) und dessen Interpretation	68
6.2.1.1	ROC Kurve für das Cholesterin	69
6.2.1.2	ROC Kurve für das Neopterin	70
6.2.1.3	ROC Kurve für das Procalcitonin (PCT)	71
6.2.1.4	ROC Kurve für das Brain Natriuretic Peptide (BNP)	72
6.2.1.5	ROC Kurve für das Interleukin-6 (IL-6)	73
6.2.1.6	ROC Kurve für das High-mobility group protein B1 (HMGB-1)	74
6.2.1.7	ROC Kurve für das Lipopolysaccharid-bindendes Protein (LBP)	75

6.2.1.8	ROC Kurve für das Laktat	76
6.2.1.9	ROC Kurve für das Endotoxin	77
6.2.2	Vergleich der Parameter in den Subgruppen; niedrige, mittlere und hohe Endotoxinkonzentration	78
6.2.2.1	Vergleich der LBP-Konzentration zwischen den 3 Subgruppen	78
6.2.2.2	Vergleich der Cholesterin- Konzentration zwischen den 3 Subgruppen	79
6.2.2.3	Vergleich der Laktat-Konzentration zwischen den 3 Subgruppen.....	80
6.2.2.4	Vergleich der Neopterin-Konzentration zwischen den 3 Subgruppen	81
6.2.3	Korrelation der Entzündungsparameter mit Scores wie MPI und APACHE II Score	82
6.2.3.1	Korrelation des MPI mit PCT.....	82
6.2.4	Entzündungsparameter und Vergleich der prä- und postoperativen Werte.....	83
6.2.4.1	Interleukin 6 (IL-6)	83
6.2.4.2	PCT	85
6.2.4.3	High-Mobility-Group-Protein B1 (HMGB1)	87
6.2.4.4	Lipopolysaccharid-bindendes Protein (LBP)	89
6.2.4.5	Lipopolysaccharid (Endotoxin).....	91
6.2.4.6	Laktat	95
6.2.4.7	NT-proBNP	97
6.2.4.8	Neopterin	99
6.2.4.9	Cholesterin	101
7	Rangkorrelationen der einzelnen Parameter nach Spearman	103
7.1	Korrelation im Beobachtungszeitraum von 6 Tagen	103
7.1.1	Korrelation des Endotoxins (EAA) mit IL-6.....	103
7.1.2	Korrelation von IL-6 mit EAA, PCT, Laktat, Bilirubin und Copeptin.....	105
7.1.3	Korrelation von PCT mit Laktat, Cholesterin, Neopterin und Copeptin in den ersten sechs Tagen im Gesamtkollektiv.....	106
7.2	Korrelationen in der Subgruppe „survivor“	108
7.3	Korrelationen in der Subgruppe „nonsurvivor“.....	108
8	Grundlagen für die Interpretation der erhobenen Daten	109
9	Diskussion	110
10	Zusammenfassung	123
11	Eidesstattliche Versicherung.....	127
12	Tabellen über Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman	128
12.1	Korrelation im Beobachtungszeitraum von 6 Tagen	128
12.1.1	Tag 0.....	128

12.1.2	Tag 1.....	129
12.1.3	Tag 2.....	130
12.1.4	Tag 3.....	131
12.1.5	Tag 4.....	132
12.1.6	Tag 5.....	133
12.2	Korrelation in den Subgruppen Survivor und Nonsurvivor.....	134
12.2.1	Korrelation in der Subgruppe der überlebenden Patienten.....	134
12.2.2	Korrelation in der Subgruppe der verstorbenen Patienten	135
13	Abbildungsverzeichnis	136
14	Literaturverzeichnis	140

1 Einleitung und Fragestellung

1.1 Geschichte der Sepsis

1.1.1 Sepsis

Der bislang älteste schriftliche Nachweis einer Fieberdiagnose datiert 5000 Jahre zurück und stammt aus der Zeit des chinesischen Kaisers Sheng Nung. Zweieinhalb Jahrtausende später wird bereits der Begriff Sepsis von Hippokrates (ca. 460 – 370 v.Chr.) geprägt und leitet sich vom altgriechischen Wort σηνω („Faul machen“) ab.

Eine Erkrankung, die etwa 7 Tage nach Verwundung mit Fieber beginnt, „das verursacht wird durch eine Materie, die fault“ und die häufig mit dem Tod endet.

Auch der persische Arzt und Philosoph Avicenna (Abū Alī al-Husayn ibn Abdullāh ibn Sīnā) schreibt um 1000 n. Chr. in seinem bis ins 17. Jahrhundert genutzten Hauptwerk *Qanun al-Tibb* (Kanon der Medizin) von einer „Fäulnis des Blutes“, das zu dauerndem Fieber führt [1].

1.1.2 Mikrobiologie

Erst nach der Entwicklung der Lichtmikroskopie etwa ab 1600 n. Chr. konnten Bakterien beobachtet und untersucht werden. Antoni van Leeuwenhoek, ein niederländischer Naturforscher, konnte 1676 erstmals mit Hilfe eines selbstgebauten Mikroskops Bakterien im menschlichen Speichel und in Gewässern beobachten, was den Beginn der Mikrobiologie markiert. Die medizinische Mikrobiologie dagegen wurde erst durch die Grundlagenforschung von Louis Pasteur sowie durch die Arbeit des Berliner Bakteriologen Robert Koch (1843–1910), der als erster systematisch nach Mikroorganismen suchte, maßgeblich gefördert. Erst danach konnte sich die moderne Endotoxinforschung etablieren.

1.1.3 Endotoxin

Bereits 1894 wurde durch Centanni eine fieberinduzierende Substanz beschrieben, die keine Proteinstruktur aufwies und aus Bakterien gewonnen werden konnte. 1934 wurden durch die Arbeitsgruppe des Franzosen Bovin erstmalig biologisch aktive Zellwandbestandteile isoliert, die in vivo ähnliche pathogene Effekte aufwiesen wie intakte Bakterien. Die Identifizierung dieser Zellwandbestandteile als Lipopolysaccharid und die pathogene Bedeutung des Lipidanteils gelang jedoch der Arbeitsgruppe von Rietschel [2].

1.1.4 Zytokine

1957 isolierten der Brite Alick Isaacs und der Schweizer Jean Lindemann aus virusinfizierten Zellkulturen ein Protein, das die Zellen für eine zweite Virusinfektion weitestgehend resistent machte, welches sie Interferon nannten [3, 4].

Zu Beginn der 1970er Jahre entdeckten John David und Barry Bloom den Makrophagen Migration Inhibition Factor (MIF) und eine Reihe weiterer Substanzen, die von Lymphozyten abgegeben werden. Mit Bezugnahme auf die Zellen, die diese Substanzen sezernierten, wurde von Dudley C. Dumonde der Begriff „Lymphokine“ geprägt [5].

Stanley Cohen, ein US-amerikanischer Neurowissenschaftler und Biochemiker, der 1986 für seine Entdeckung der Wachstumsfaktoren NGF und EGF den Nobelpreis für Physiologie oder Medizin bekam, untersuchte in den frühen 1970er Jahren die als Lymphokine bezeichneten Faktoren genauer und erkannte dabei, dass diese Substanzen zu einer Gruppe von hormonähnlichen Botenstoffen gehörten, die von vielen verschiedenen Zellen des Immunsystems gebildet wurden. Deshalb schlug er 1974 den Begriff „Zytokine“ vor, der sich rasch durchsetzte [6].

Die Sepsis wurde, auch durch die Entdeckung von weiteren Zytokinen und deren Funktionen zunehmend als Folge einer Störung des Gleichgewichts zwischen pro- und antiinflammatorischen Mediatoren bzw. Zytokinen verstanden.

1.2 Definition

Sepsis ist eine komplexe Immunreaktion eines Organismus auf eine Infektion durch verschiedenste Erreger (wie z.B. Bakterien, Viren, Pilze). Die komplexen pathophysiologischen Vorgänge und Schädigungsmechanismen machen jedoch dessen genaue Definition schwer. Lange Zeit bestand kein allgemein anerkannter Konsens über Diagnosekriterien. Sepsis-Definitionen variierten von Land zu Land.

Eine der ersten Sepsis-Definitionen wurde von dem deutschen Arzt und Bakteriologen Hugo Schottmüller 1914 formuliert [7]. Dabei beschrieb er die Sepsis als Einschwemmung von Keimen aus einem infizierten Herd in die Blutbahn, die objektive und subjektive Krankheitserscheinungen auslösten. Heute wissen wir, dass es sich bei der Sepsis um eine sehr komplexe, in *verschiedenen Phasen* ablaufende immunologische Reaktion des Körpers auf lokale oder generalisierte Infektionen handelt.

Diese Erkenntnis wurde zum ersten Mal von Lewis Thomas 1972 im New England Journal of Medicine mit „*it is our response that makes the disease*“ konkretisiert [8].

Eine moderne Definition stammt von Schuster und Werdan aus dem Jahr 2005.

„Sepsis ist die Gesamtheit der lebensbedrohlichen klinischen Krankheitserscheinungen und pathophysiologischen Veränderungen als Reaktion auf die Aktion pathogener Keime und ihrer Produkte, die aus einem Infektionsherd in den Blutstrom eindringen, die großen biologischen Kaskadensysteme und spezielle Zellsysteme aktivieren und die Bildung und Freisetzung humoraler und zellulärer Mediatoren auslösen [9].“

Roger Bone et al. prägten 1989 den Begriff des septischen Syndroms anhand eines bakteriellen Infektionsherdes sowie klinischer Symptome [10]. Diskrepant war jedoch, dass ähnliche Symptome auch bei Patienten auftraten, bei denen kein Infektionsherd nachzuweisen war, so zum Beispiel bei Traumata, Verbrennungen oder akuter Pankreatitis. Es wurde schnell klar, dass es zur Etablierung von standardisierter Diagnostik, Therapie und Forschung auch einer genaueren Sepsis-Nomenklatur bedurfte. Vor diesem Hintergrund wurde 1992 auf der internationalen Konsensuskonferenz des American College of Chest Physicians (ACCP) und der Society

of Critical Care Medicine (SCCM) Richtlinien für einheitliche Definition von SIRS, Sepsis, schwerer Sepsis und septischem Schock festgelegt [11].

Mit der Erforschung von molekularen Mechanismen in der Entstehung der Sepsis wurden neue Biomarker detektiert, die die diagnostischen Möglichkeiten deutlich erweiterten. Um diesem Umstand gerecht zu werden wurde im Dezember 2001 die Internationale Sepsis Definition Conference einberufen, in der jedoch mangels ausreichender Evidenzlage die damals gültige Sepsisdefinition nicht modifiziert wurde. Es wurde jedoch die Notwendigkeit gesehen, in Analogie zum seit Jahren etablierten TNM-System bei malignen Erkrankungen, auch ein System zu etablieren, mit dem der Schweregrad der Erkrankung und das Outcome der Patienten besser zu beurteilen wäre, was zur Einführung des PIRO Staging Systems geführt hat. Das PIRO System klassifiziert die Patienten nach Prädisposition (Grunderkrankung), Infektion, Response (Immunantwort) und nach Organdysfunktion [12].

Die Begriffe Sepsis, schwere Sepsis und septischer Schock beschreiben ein *Krankheitskontinuum*, das unter Einbeziehung von klinischen Vitalparametern, Laborwerten, hämodynamischen Werten und Organfunktionen definiert wird. Die kontinuierlichen Übergänge der Stadien, die hohe Heterogenität der Symptome, die von multiplen Faktoren wie Art, Pathogenität und Anzahl des Agens sowie dem übrigen Gesundheitszustand des Patienten beeinflusst werden, erschwert die Diagnosestellung immens [13].

1.3 Epidemiologie und Inzidenz

Trotz aller Fortschritte stellen Sepsis, schwere Sepsis und Multiorganversagen die größte Herausforderung an die Intensivmedizin dar, die auch unter Verwendung aller aktuell möglichen therapeutischen Optionen mit einer schlechten Prognose einhergeht. Die Letalität der Sepsis wird in der Literatur mit ca. 30% angegeben. Somit ist Sie nach Herz-Kreislauf- und malignen Erkrankungen die dritthäufigste Todesursache in Deutschland [14, 15].

Bei entsprechender Infektion spielen für die Entstehung einer Sepsis das Alter und der Gesundheitszustand des Individuums nur eine untergeordnete Rolle. Von den etwa 750.000 Sepsis-Fällen in den USA versterben ca. 215.000 [16]. Martin et al. führten eine retrospektive Untersuchung über die Epidemiologie der Sepsis in den USA von 1979 – 2000 durch. Sie stellten einen jährlichen Anstieg der Inzidenz um durchschnittlich 8,7% von 82,7/100.000 auf 240,4/100.000 Fälle fest [17].

Für die europäischen Länder ist die Inzidenz etwas niedriger; hier erkrankten ca. 550.000 Menschen pro Jahr an einer Sepsis, wobei 146.000 Menschen die Krankheit nicht überleben (26%) [14, 15].

Gemäß der Daten des deutschen Kompetenznetzwerkes Sepsis (SeptNet) liegt die Inzidenz für Sepsis bundesweit bei 116/100.000 erwachsenen Einwohnern und für schwere Sepsis bei 110/100.000, welches einer Prävalenz von 12,4 respektive 11% aller auf Intensivstationen behandelten Patienten entspricht. In Anbetracht der demographischen Entwicklung, Zunahme der immunkompromittierenden Erkrankungen sowie invasiver Maßnahmen im Krankenhaus ist davon auszugehen, dass die Inzidenz der Sepsis künftig noch deutlich zunehmen wird.

Trotz fortschreitender medizinischer Entwicklung liegt die Mortalitätsrate bei schwerer Sepsis inklusive septischem Schock bei 55,2% [18]. Nach KHK und akutem Myokardinfarkt rangiert die Sepsis mit ca. 60.000 Todesfällen pro Jahr auf Platz drei der häufigsten Todesfälle [19].

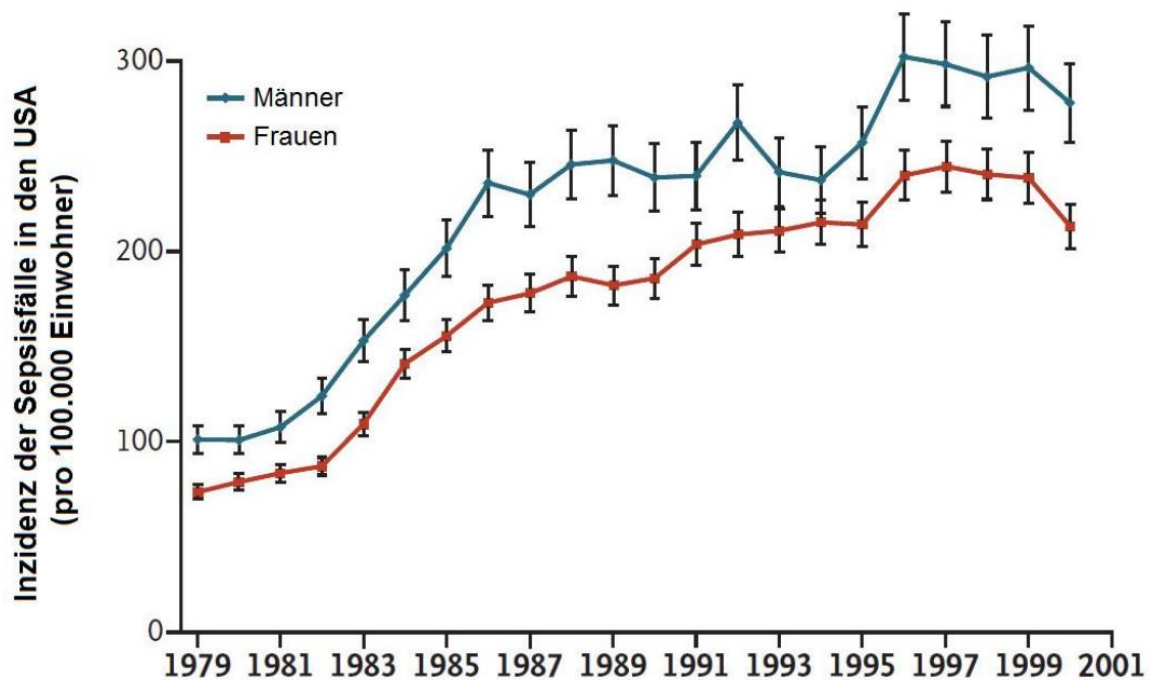


Abbildung 1: Inzidenz der Sepsisfälle in den USA von 1979-2000 in Abhängigkeit vom Geschlecht (modifiziert nach Martin G.S.[17])

1.3.1 Erregerspektrum

Im chirurgischen Patientengut sind Bakterien Hauptursache für ein septisches Krankheitsbild, gefolgt von Pilzinfektionen und Viren. Im Jahr 2000 waren in den USA Gram-positive Bakterien für 52,1 %, Gram-negative Erreger für 37,6 % der Sepsis-Fälle verantwortlich. Bei 4,7 % der Fälle wurden Mischinfektionen festgestellt; wobei Pilzinfektionen mit 4,6 % eine deutlich zunehmende Inzidenz zeigten [17]. Dieser Zunahme liegt zum einen der unkritische Einsatz von Breitbandantibiotika und zum anderen ein vermehrter Gebrauch von Immunsuppressiva zugrunde [20]. Daten aus deutschen Intensivstationen zeigten im Jahre 2003 mit 55,7% respektive 54,1% eher eine ausgeglichene Verteilung Gram-positiver und Gram-negativer Bakterien[18].

Dabei ist der Infektfokus mit Abstand am häufigsten im Respirationstrakt (68%) lokalisiert, gefolgt von Abdomen (22%), Blut (20%) und Urogenitaltrakt (14%). Ein Erregernachweis gelingt jedoch nur bei ca. 60% der Patienten mit dem klinischen Bild einer Sepsis [21].

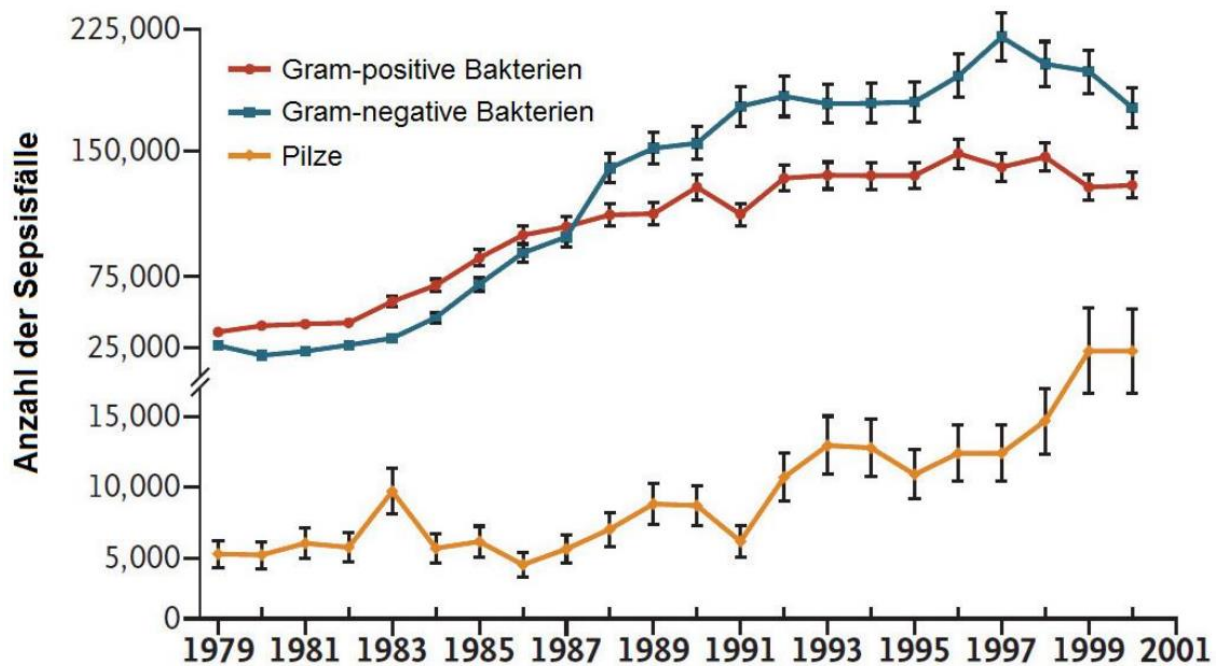


Abbildung 2: Erregerspektrum der Sepsis in den USA (modifiziert nach Martin G.S.[17])

1.4 Pathogenese und Pathophysiologie

Sowohl der Pathogenese als auch der Pathophysiologie der Sepsis liegen sehr komplexe molekulare Mechanismen zugrunde, so dass sie bis heute nicht vollständig geklärt sind. Prinzipiell entwickelt sie sich aus einer initial notwendigen Abwehrreaktion des Körpers auf eine Infektion, wobei die Abwehrmechanismen überschießen und unkontrolliert ablaufen [22].

Dabei folgt der überschießenden immunologischen Reaktion eine Immunsuppression, wobei beide Phasen den Organismus schädigen und für das multiple Organversagen bis hin zum Tod verantwortlich sind [23]. Die richtige Balance zwischen den beiden Phasen wirkt sich jedoch entscheidend auf die Mortalität bei Sepsis aus [23].

Die Sepsis stellt ein Krankheitskontinuum dar, welches unabhängig vom auslösenden Erreger oder Agens unbehandelt in eine vital bedrohliche Endstrecke mit Organ- und Multiorganversagen führt. Für das letztere spielt insbesondere die Mikrozirkulationsstörung eine zentrale Rolle, die wiederum ihren Ursprung in der Störung der Hämostase hat.

Bis vor wenigen Jahren wurde noch die infektgetriggerte Inflammation für die Auslösung der Sepsis-Kaskade verantwortlich gemacht. Allerdings konnte trotz ständig verbesserter Entwicklungen in der antibiotischen Therapie, der chirurgischen Herdsanierung, der Intensivtherapie mit Volumensubstitution und Kreislaufunterstützung mittels Katecholaminen sowie verschiedenen Formen der Organersatztherapie (z. B.: Hämofiltration), kein nennenswerter Rückgang der Letalität belegt werden [11].

1.4.1 Endotoxin

Endotoxine sind Lipopolysaccharide, die aus einem hydrophilen Polysaccharid- und einem lipophilen Lipidanteil aufgebaut sind. Es weist ein Molekulargewicht von ca. 10.000 Dalton auf und ist in der äußeren Membran gramnegativer Bakterien lokalisiert. Endotoxine sind, im Gegensatz zu den Bakterien, aus denen sie stammen, sehr hitzestabil.

Das Endotoxin besteht aus drei Hauptbestandteilen:

1. Das O-Polysaccharid
2. Das Core-Oligosaccharid
3. Die Lipid-A-Struktur

Das O-Polysaccharid ist der außen gelegene Bestandteil des Endotoxins und variiert in Zusammensetzung und Länge zwischen den einzelnen gramnegativen Bakterien beträchtlich, weshalb es auch für die Serotypencharakterisierung einzelner Bakterien herangezogen wird [24].

Das darauffolgende Core-Oligosaccharid ist im Gegensatz zum O-Polysaccharid phylogenetisch besser konserviert und besteht aus mehreren 2-Keto-3-Desoxyoctansäuremolekülen, die mit mehreren Heptosemolekülen verknüpft sind. Das Core-Oligosaccharid ist mit der Lipidkomponente des Moleküls, dem Lipid A, kovalent verknüpft. Das Lipid-A setzt sich aus variabler Anzahl von Fettsäuren (meistens 6) zusammen, die an zwei phosphorylierte Glukosaminreste gebunden sind. Eines dieser Glucosamine ist die Bindungsstelle für das Core-Oligosaccharid [24].

Das Endotoxin ist fest mit der Wand der gramnegativen Bakterien verbunden, wird aber im Rahmen einer antibiotischen Therapie oder durch externe Lyse durch Komplement und Phagozytose durch Monozyten oder neutrophile Granulozyten freigesetzt [24].

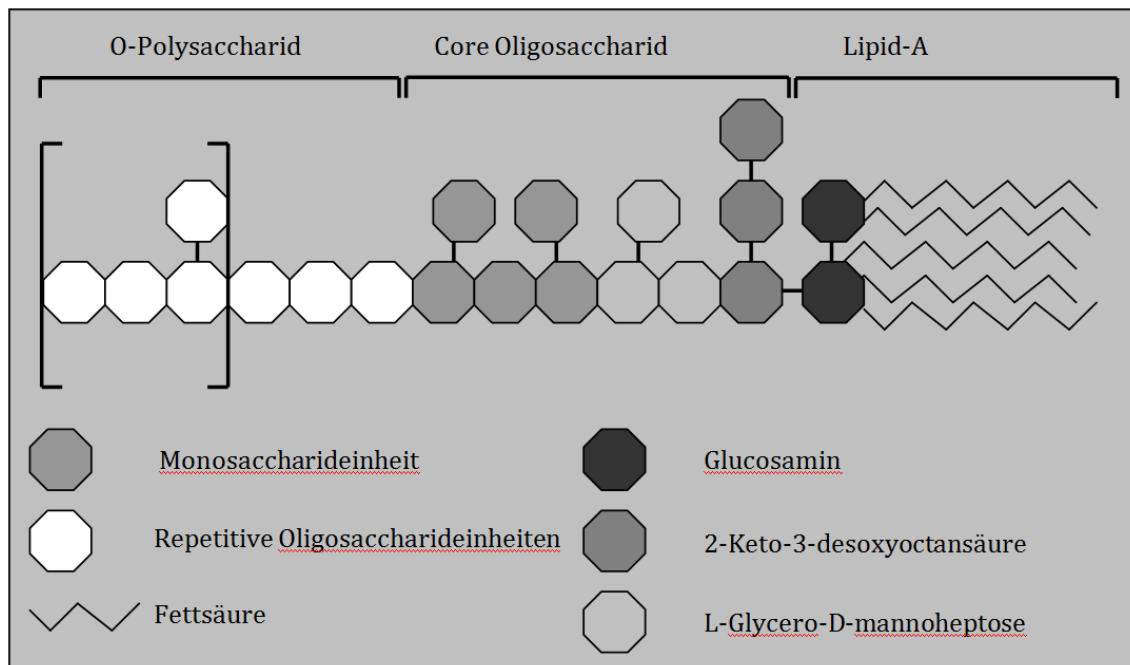


Abbildung 3: Strukturformel von Endotoxin [24]

1.4.2 Wirkungen des Endotoxins auf den Organismus

Endotoxin besitzt eine hohe humantoxische Wirkung. Nach einer Endotoxininjektion in einen Säugetierorganismus, reagiert dieser typischerweise mit Fieber, Leukozytose, Hypoglykämie, Dyspnoe, Hypotension und Schock. Die durch das Endotoxin aktivierte Haupteffektorzelle ist dabei der Monozyt, der durch die Produktion von pro- und antiinflammatorischen Zytokinen wesentlich zu den beobachteten Symptomen beiträgt. Die Wirkung des Endotoxins ist jedoch speziesspezifisch; so liegt z.B. die letale Dosis bei Ratten um den Faktor 25.000 höher als beim Menschen, so dass die im Tiermodell erhobenen Daten nur bedingt auf den Menschen übertragbar sind [25].

Probanden, denen in niedrigen Dosen (4 ng/kg KG) Endotoxin injiziert wurden, zeigten bereits nach 90 Minuten Schüttelfrost, Nausea, Kopfschmerzen und Myalgien. Ferner wurde in den ersten drei Stunden Fieber und Tachykardie beobachtet, die mit einem messbaren Konzentrationsanstieg der Stresshormone Adrenalin und Kortisol

einhergingen. Innerhalb von 6 Stunden konnte eine moderate Leukozytose gemessen werden [25].

Lang anhaltendes Fieber korrelierte mit einem höheren TNF- α -Plasma-Spiegel, wobei der letztere 90 min nach der Endotoxininjektion einen signifikanten Anstieg zeigte, seinen Peak etwa nach drei Stunden erreichte (240 pg/ml) und nach 5 Stunden nicht mehr nachweisbar war [25].

1.4.3 Endotoxinwirkung auf die Hämodynamik

In einer weiteren Arbeit wurde die Wirkung einer niedrigdosierten Endotoxininjektion auf die Hämodynamik untersucht. Hierzu wurde Probanden 4 ng/ml KG Endotoxin intravenös appliziert. Dabei zeigte sich neben einer Tachykardie und Zunahme des Herzindex auch eine Abnahme des peripheren Widerstandes und des mittleren arteriellen Druckes (MAP). Desweiteren wurde die Abnahme der Myokardkontraktilität und ein Anstieg der myokardialen Compliance beobachtet [26].

1.4.3 Endotoxinwirkung auf das plasmatische Gerinnungssystem

Sowohl die fibrinolytische als auch die prokoagulatorische Aktivität wird in Anwesenheit von Endotoxin beeinflusst. In einer Arbeit von Suffredini konnte in den ersten Stunden nach Endotoxininjektion bei Probanden eine erhöhte fibrinolytische Aktivität, bedingt durch erhöhte t-PA-Konzentration, beobachtet werden. Darauf folgte eine prokoagulatorische Phase mit erhöhten Plasminogenaktivator-Inhibitor Konzentrationen sowie Aktivierung von neutrophilen Granulozyten. Auch die Zunahme des Von-Willebrand-Faktors trug dazu bei [27].

1.4.4 Immundysbalance mit biphasischem Verlauf der inflammatorischen Reaktion

Gemäß dem derzeitigen Sepsisverständnis reagiert das Immunsystem auf einen septischen Fokus mit einer biphasischen Entzündungsreaktion. Dabei steht zunächst

eine proinflammatorische Antwort mit konsekutiver Kaskadenaktivierung als Reaktion auf eine schwere Infektion oder eine ausgedehnte Gewebeschädigung im Vordergrund. Charakteristisch für die systemische Entzündungsreaktion ist dabei die Aktivierung von Leukozyten und Makrophagen, die ihrerseits wiederum eine Vielzahl von Zytokinen und Chemokinen, wie Tumornekrosefaktor (TNF)- α , Interleukin (IL)-1 β und Interferon (IFN)- γ produzieren und auf diese auch reagieren. Zytokine haben eine zentrale Bedeutung in der Modulation der Immunantwort und induzieren die Synthese und Expression von sekundären Mediatoren, die weitere Leukozyten aktivieren und im Sinne eines Circulus vitiosus die Entzündungsreaktion unterhalten. Diese überschießende Immunreaktion spiegelt ein komplexes Wechselspiel zwischen den Zytokinen und Chemokinen sowie die amplifizierende Interaktionen zwischen Entzündungs-, Komplement- und Gerinnungskaskade wieder. Im Anschluss an die initiale hyperinflammatorische Phase steht eine immunsuppressive Situation, bis hin zur Immunparalyse im Vordergrund. Diese, als verzögerte kompensatorische Gegenreaktion (compensatory antiinflammatory response syndrom (CARS)) bezeichnete immunologische Gegenreaktion die durch den Anstieg und relativem Überwiegen von antiinflammatorischen Zytokinen gekennzeichnet ist, ist allen septischen Patienten gemeinsam [28, 29]. Sowohl die hohe Suszeptibilität für sekundäre Infektionen als auch die protrahierten Organschäden bei kritisch kranken Patienten sind auf die Immunparalyse mit der zellulären Anergie zurückzuführen.

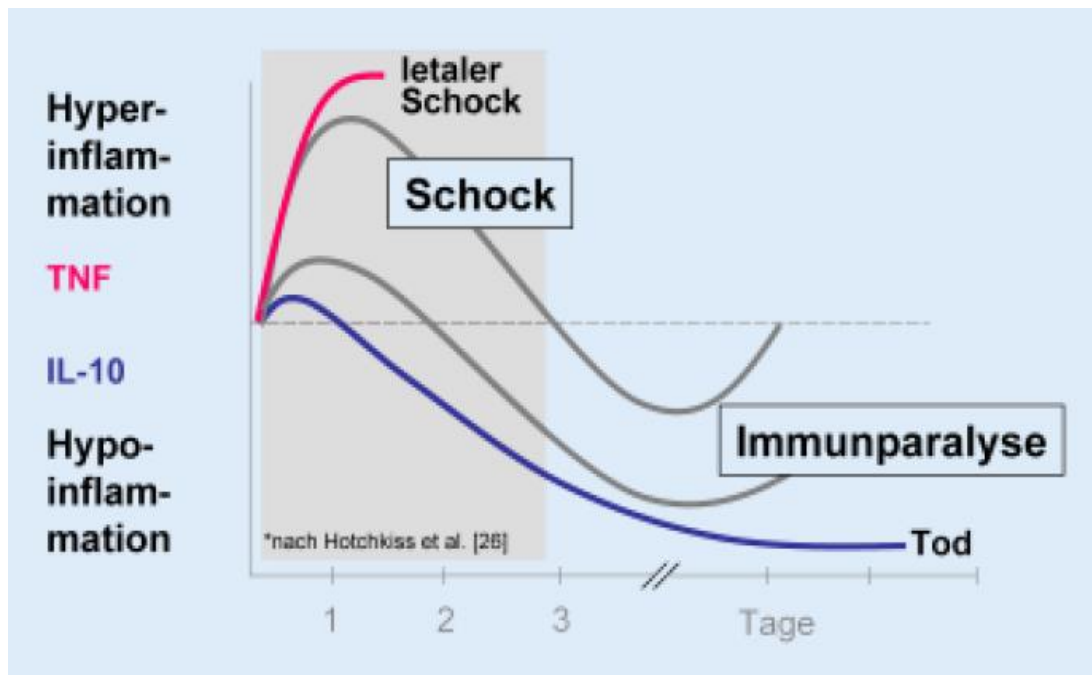


Abbildung 4: Typischer biphasischer Verlauf der Sepsis [30]

1.4.5 Die regulatorische Rolle der T- Zellen

Im Zuge der unspezifischen Immunantwort werden zusätzlich zu den polymorphkernigen Granulozyten auch regulatorische T-Zellen aktiviert, deren Bedeutung lange unterschätzt wurde [31].

In der hyperinflammatorischen Phase sind die CD4-positiven Th1-Zellen dominierend, wohingegen in der zweiten Phase eher eine T-Zell-Anergie mit einem Shift zu Th2-Zellen, eine Reduktion von MHC-Klasse-II Expression (wie z.B. HLA-DR) mit einer konsekutiv reduzierten Fähigkeit zur Antigenpräsentation sowie eine erhöhte Apoptose zu beobachten ist [23]. Das durch die Th1-Zellen gebildete Interferon Gamma ist für die Beseitigung spezieller intrazellulärer Pathogene verantwortlich und stimuliert die B-Zellen zur IgG2a-Produktion. Die Th2-Zellen produzieren hingegen IL-4, IL-5 und IL-13, führen zur Rekrutierung von eosinophilen Zellen und unterstützen die Bildung von IgG1 und IgE. Obwohl fast vor dreißig Jahren klinische Arbeiten auf den Zusammenhang von Immundepression und damit assoziierten, erhöhten Komplikationsraten beim kritisch kranken Patienten hinwiesen, wurde die Bedeutung dieser regulatorischen T-Zellen lange Zeit nicht erkannt, möglicherweise aber auch, wegen ihrer geringen Zellzahl, nur unterschätzt [31-33].

Zwischen der Suppression der HLA-DR-Expression und dem Schweregrad eines in dieser Situation septischen Ereignisses besteht ein direkter Zusammenhang [34].

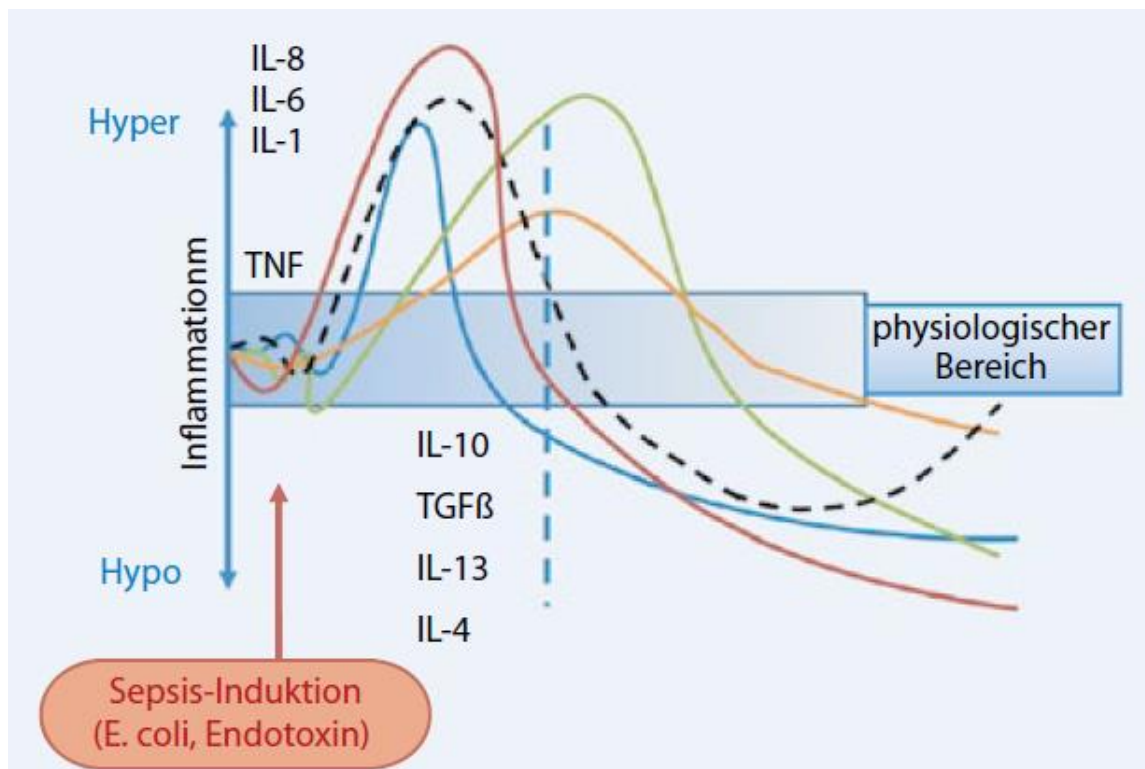


Abbildung 5: Biphasischer Verlauf der Sepsis mit idealisiertem Verlauf (gestrichelte Linie) und individueller Verläufe (durchgezogene Linien) (Modifiziert nach Körner [35])

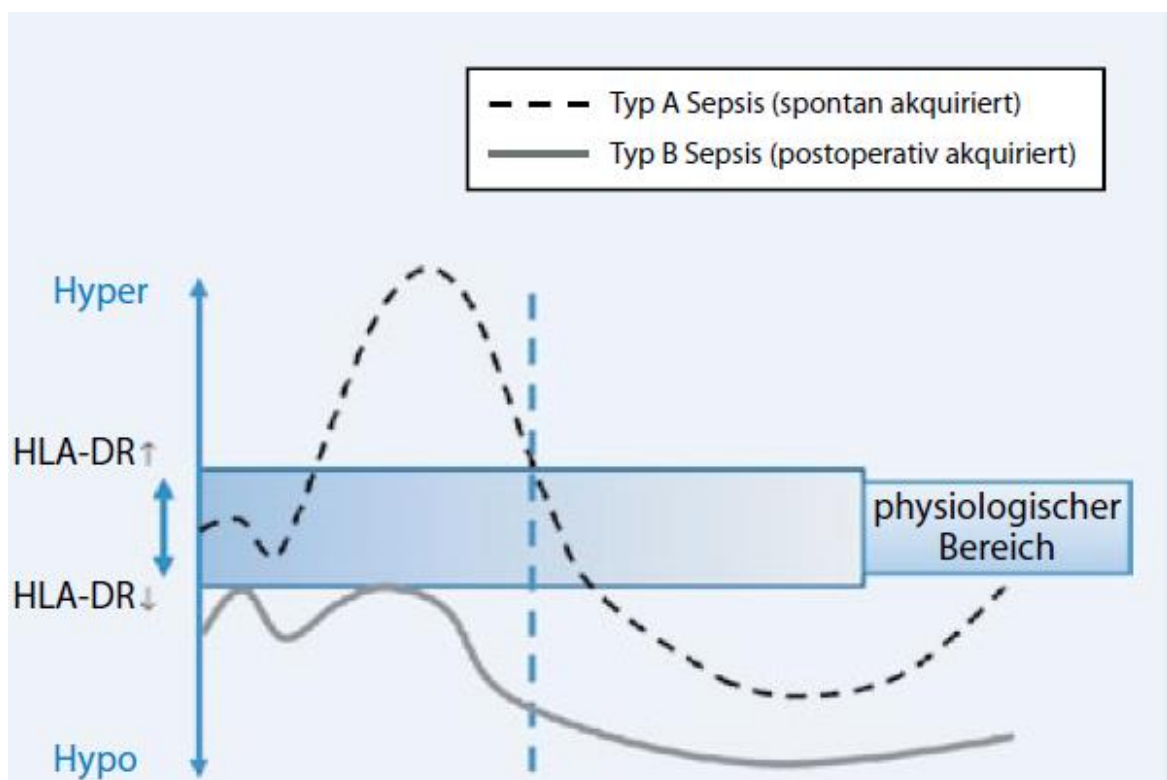


Abbildung 6: Verlauf der Sepsis nach Klassifikation in die spontan akquirierte Typ-A-Sepsis und in die postoperativ akquirierte Typ-B-Sepsis. (Modifiziert nach Körner [35])

1.4.6 Auslösung der inflammatorischen Antwort

Im chirurgischen Patientenkollektiv ist der häufigste Auslöser der Sepsis eine bakterielle Infektion, auch wenn in selteneren Fällen Pilze und Viren als Ursachen in Frage kommen. Aber auch ausgedehnte Verbrennungen, schwere Unfälle mit ausgedehntem Weichteiltrauma sowie komplexe Operationstrauma können im Sinne von nichtinfektiösen Stimuli eine Sepsis auslösen.

Entscheidend für die Einleitung der angeborenen Immunantwort sind die sogenannten Rezeptoren zur Mustererkennung. Dabei handelt es sich um molekulare, evolutionär streng konservierte Erkennungssysteme, die eine rasche Abwehr des Organismus erlauben. Die sog. „pattern-recognition receptors“ (PRRs) werden auf Immunzellen exprimiert und erkennen Pathogene anhand charakteristischer Muster und Struktur motive, den sog. „pathogen-associated molecular patterns“ (PAMPs) [36]. Klassischer Vertreter dieser pathogenassoziierten molekularen Muster sind Bestandteile gramnegativer und grampositiver Bakterien (Lipopolysaccharid, Lipoteichonsäure und Peptidoglykan), spezifische bakterielle Proteine sowie Nukleinsäuren von Bakterien, Pilzen und Viren [36]. Die Bindung von PAMPs an die PRRs löst eine Signaltransduktion aus, die zur Aktivierung von verschiedenen Transkriptionsfaktoren, allen voran „nuclear factor kappa B“ (NF- κ B), und zur Expression der entsprechenden Zielgene führt [28].

Jeder chirurgische Eingriff geht mit einer Gewebetraumatisierung einher, die zur Freisetzung intrazellulär endogener Proteine, sog. Alarmine, absterbender Zellen führt. Diese werden ebenso durch die PRRs identifiziert und lösen eine systemisch-inflammatorische Wirtsreaktion aus. In Analogie zu den PAMPs werden die Alarmine als DAMPs („damage-associated molecular patterns“) genannt [36].

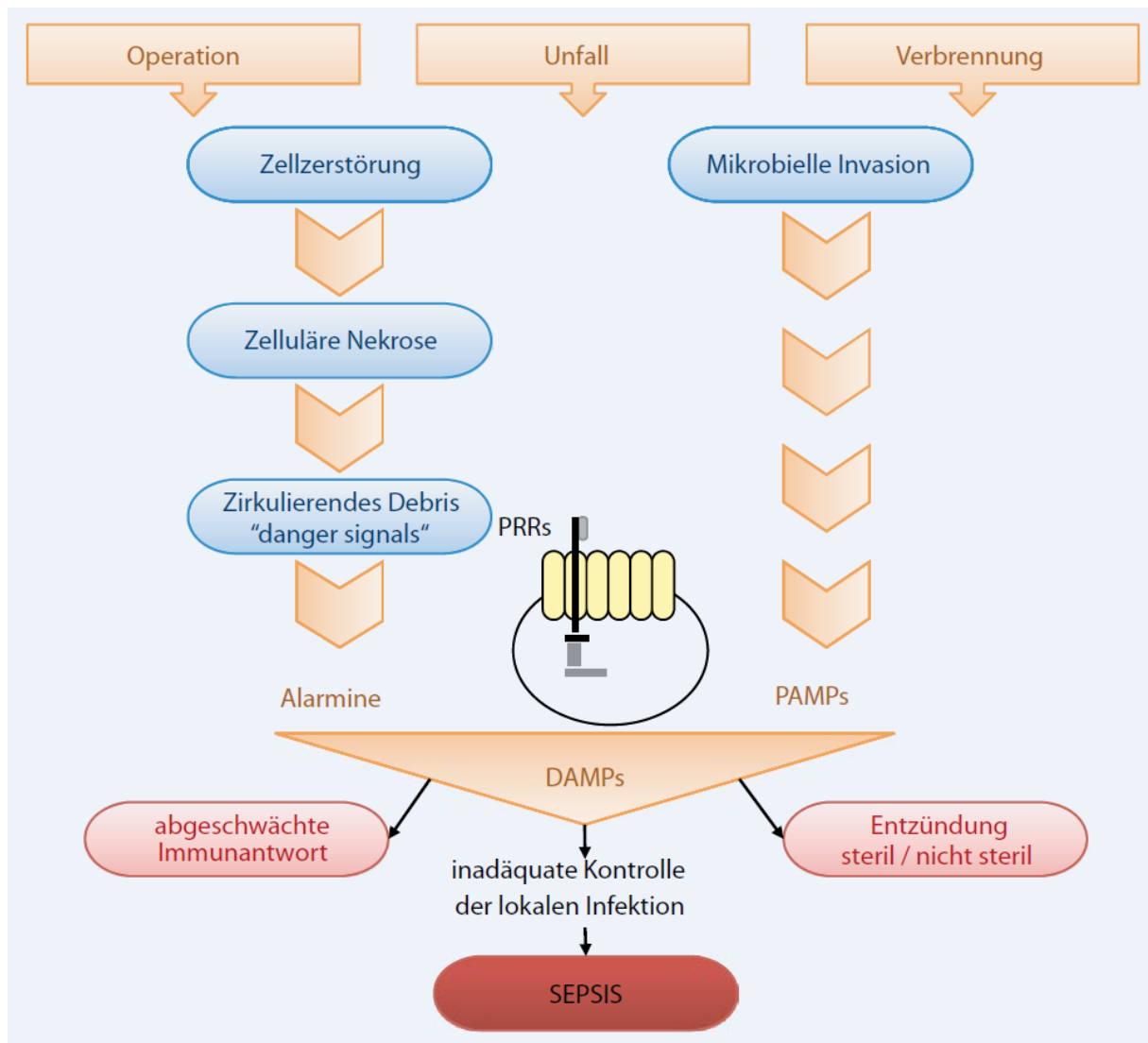


Abbildung 7: Initiation der Immunantwort durch das Zusammenwirken von endogenen Alarminen und exogenen PAMP's, die als sog. DAMP's vom Mustererkennungsrezeptoren auf Immunzellen, den sog. PRR's erkannt werden und eine inflammatorische Reaktion auslösen (nach Vollmar [28, 37]).

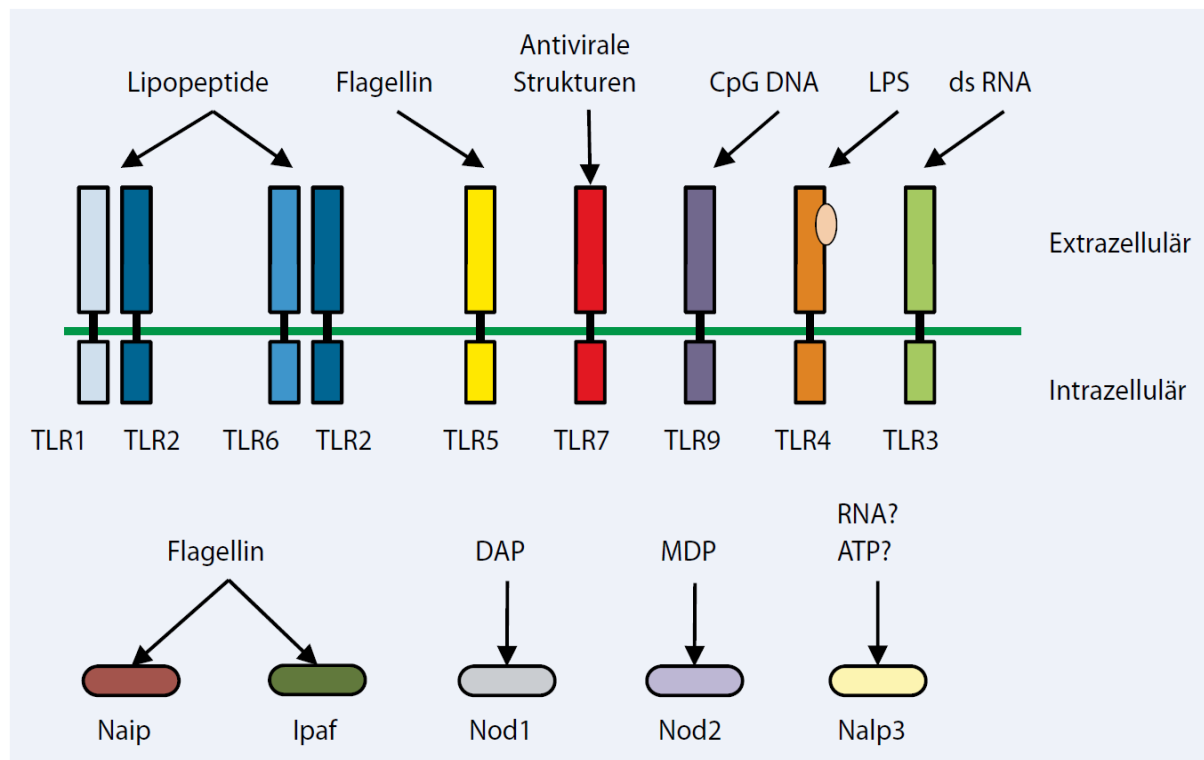


Abbildung 8: Darstellung der intra- und extrazellulär gelegenen Mustererkennungsrezeptoren (PRRs) und deren Liganden (PAMPs), (Modifiziert nach Hauber [37])

2 Operatives Trauma und postoperative Immunsuppression

Aufgrund der klinischen Beobachtungen sowie der Erfahrung über den Verlauf der septischen Krankheitsbilder auf den chirurgischen Stationen war bekannt, dass eine nach vorausgegangenem operativem Eingriff auftretende Sepsis, einen wesentlich schwereren Verlauf einnimmt, als bei spontaner, d.h. nicht im Zusammenhang mit einer Operation erworbenen Sepsis. Diese Beobachtung führte zu der Annahme, dass Traumata, ausgedehnte Verbrennungen sowie große chirurgische Eingriffe zu einer relevanten Suppression der Immunabwehrlage führen. Diese ist insbesondere der Fall, wenn es im postoperativen Verlauf zu einer infektiösen Komplikation wie z.B. einer Anastomoseninsuffizienz kommt. Entsprechend beobachtete man bei Sepsis aufgrund einer perforierten Sigmadivertikulitis eine wesentlich geringere Mortalität als nach einer Anastomoseninsuffizienz im postoperativen Verlauf [38, 39]. Deshalb wurde bereits 2005 von Maier et al. vorgeschlagen, die Sepsis gemäß der Immunsituation zum Zeitpunkt ihrer Entstehung in Sepsis Typ A, spontan akquiriert, und Sepsis Typ B, postoperativ erworben, zu unterteilen[30]. Im Rahmen der Sepsis Typ B ist der Verlauf

trotz Fokussanierung aufgrund der eingeschränkten Abwehrlage wesentlich schwerer und führt häufiger zu einem letalen Ausgang [35].

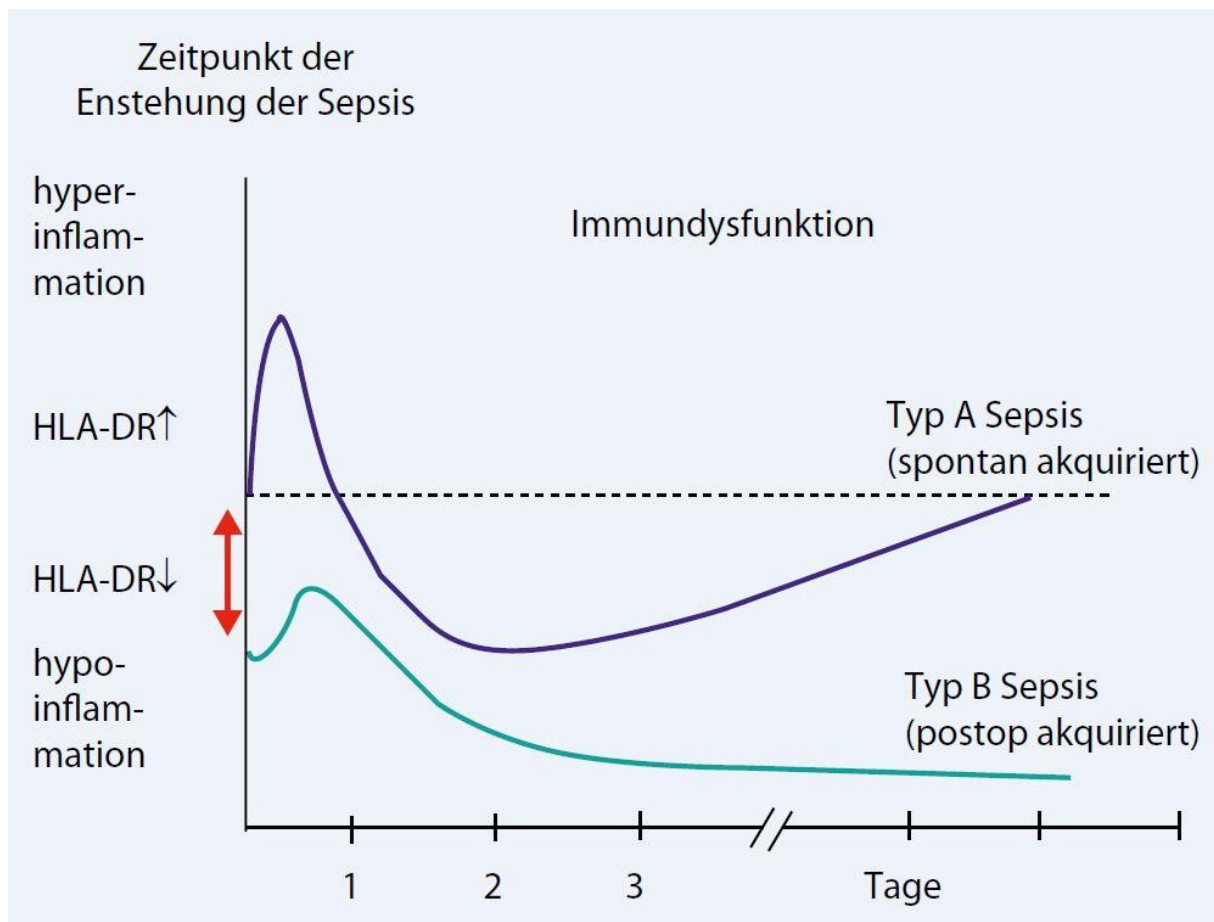


Abbildung 9: Klassifikation der Sepsis in Typ A, spontan akquiriert, und in Typ B, postoperativ erworben nach Maier et al. [30, 35]

2.1 Pathophysiologie der postoperativen Immunsuppression

Die genaue Pathophysiologie der postoperativen Immundysfunktion ist bisher nicht geklärt. Bekannt ist jedoch, dass postoperativ ein Interferon γ (IFN γ) Mangel herrscht [40]. Ferner ist die Freisetzung von Tumornekrosefaktor (TNF) inhibiert [41]. Es wurde jedoch auch beschrieben, dass in Abhängigkeit des Operationsausmaßes die Expression der HLA-DR Moleküle auf der Oberfläche der Monozyten supprimiert wird [35]. Körner et al. untersuchten periphere Monozyten, die prä- und postoperativ von Patienten isoliert wurden, auf HLA-DR Expression. Dabei stellten sie fest, dass Patienten mit umfangreicheren Eingriffen am Kolon, am Magen, an thorakalen Organen etc. im Vergleich zum Patientenkollektiv mit kleineren Eingriffen, wie z. B.

laparoskopische Cholezystektomie, Hernienchirurgie, Thyreoidektomie, etc., eine deutlich reduzierte HLA-DR Expression aufwiesen [35].

Damit kann postuliert werden, dass nicht nur die Art des operativen Eingriffs, sondern auch die Invasivität einen wesentlichen Einfluss auf die postoperative Immunlage hat.

Im Vergleich von laparoskopischen und konventionellen Operationen wurde bereits ein „Trauma-Dosis-Effekt“ bei Patienten mit größerer Operationsbelastung und somit entsprechend verringerter Immunkompetenz beschrieben [42]. Die Gruppe um Ordermann et al. konnte mit ihrer Untersuchung zeigen, dass nach konventionellen Eingriffen eine signifikant geringere HLA-DR Expression der Monozyten sowie erhöhte Plasmakonzentrationen von TNF α und Interleukin 6 (IL 6) zu beobachten war und somit eine stärkere Immunkompromittierung als nach laparoskopischen Eingriffen zu erwarten ist [43].

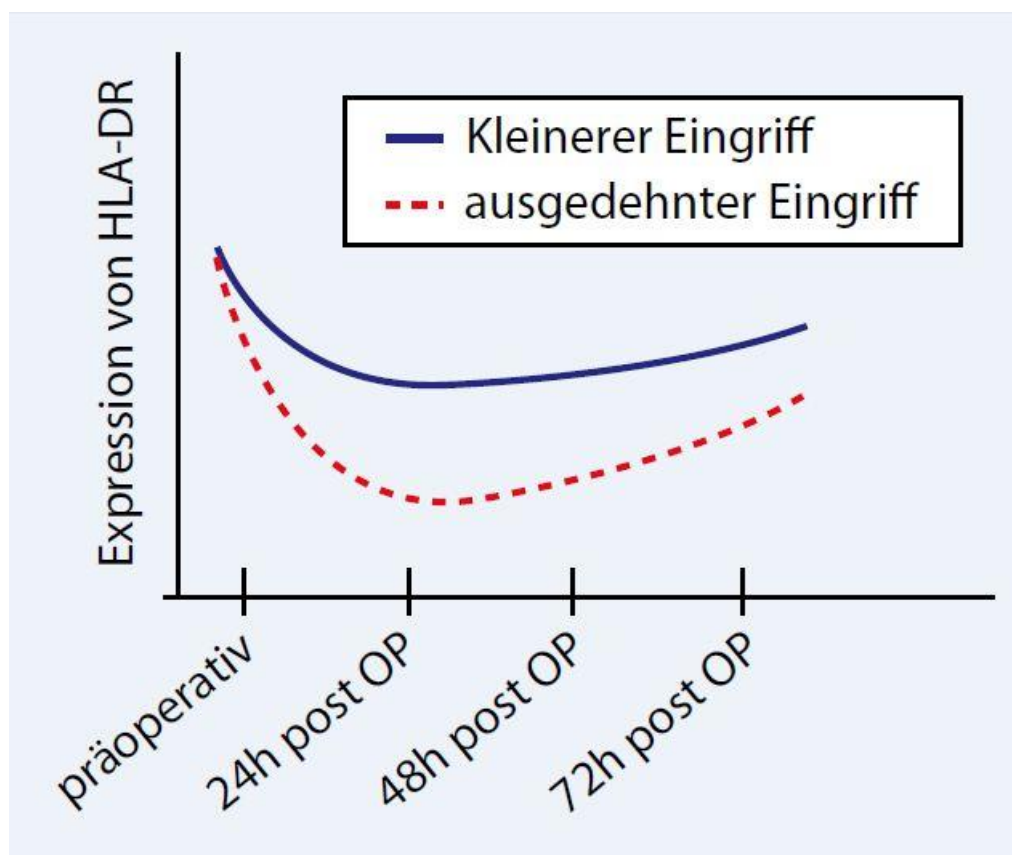


Abbildung 10: Postoperative Reduktion der HLA-DR Expression auf der Oberfläche der Monozyten nach Körner et al. [35]

Zwischen der Suppression der HLA-DR-Expression und dem Schweregrad eines in dieser Situation septischen Ereignisses besteht ein direkter Zusammenhang [34].

Ferner beobachtet man in der Analyse von Patientenblutproben, 24 h nach einem Eingriff, eine signifikant erhöhte Apoptoserate der T-Lymphozyten, die unabhängig vom Operationsausmaß auftritt und auch zur Immundepression beiträgt [23, 35].

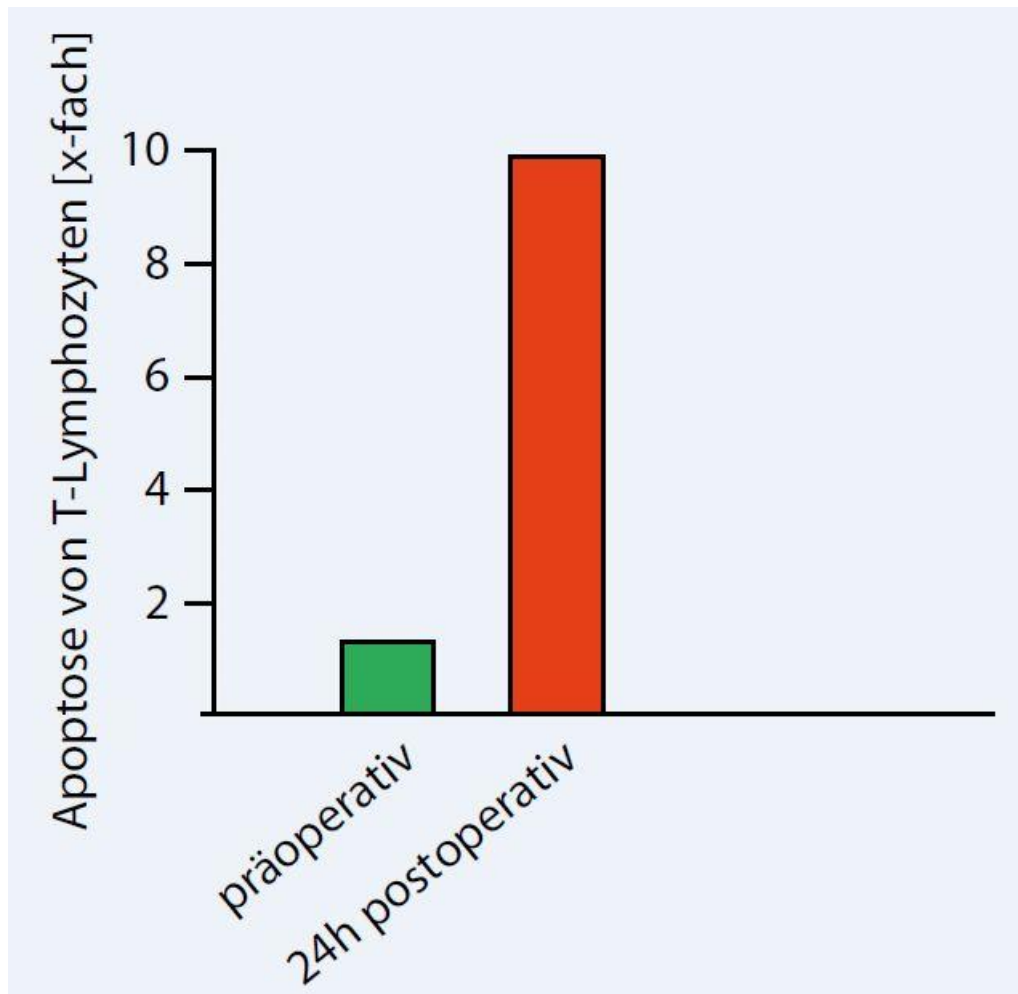


Abbildung 11: Apoptose zirkulierender T Lymphozyten 24 h nach einem chirurgischen Eingriff [35]

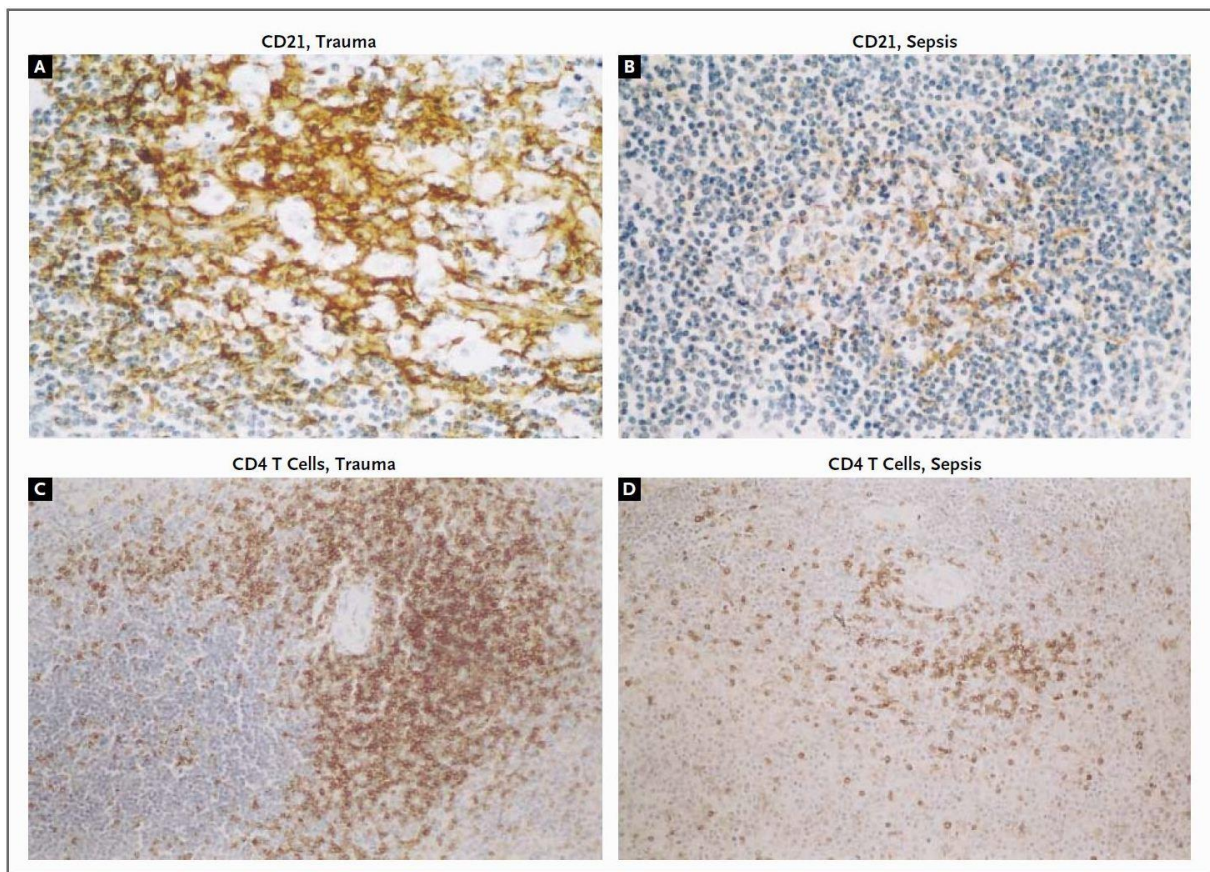


Abbildung 12: Immunhistochemische Bilder von Dendritischen Zellen (Abbildungen oben, x 600) sowie von CD4 positiven T- Helfer Zellen (Abbildungen unten, x 600) in der Milz von traumatisch (Abb. A und C) und an der Sepsis (Abb. B und D) verstorbenen Patienten [23].

3 Diagnose

Diagnosekriterien für SIRS, Sepsis und schwere Sepsis gemäß der ACCP/SCCM Konsensus-Konferenz 1992 [11]:

Ein Systemisches inflammatorisches Response-Syndrom (SIRS) ist demnach gegeben, wenn zwei Kriterien der unten stehenden Kriteriengruppierung II erfüllt sind. Eine *Sepsis* liegt bei einem zusätzlichen Nachweis einer Infektion vor (I und II). Kommt mindestens eine Organschädigung hinzu, spricht man von einer *schweren Sepsis* (I, II und III erfüllt).

Ein septischer Schock ist bei Vorhandensein der Kriterien I und II sowie für wenigstens eine Stunde ein systolischer arterieller Blutdruck unter 90 mmHg bzw. ein mittlerer arterieller Blutdruck <65 mmHg oder notwendigem Vasopressoreinsatz, um den systolischen arteriellen Blutdruck >90 mmHg oder den arteriellen Mitteldruck >65 mmHg zu halten, gegeben.

I – Nachweis der Infektion

Diagnose einer Infektion über den mikrobiologischen Nachweis oder durch klinische Kriterien

II – Systemisch inflammatorisches Response Syndrom (SIRS) (mindestens zwei Kriterien müssen erfüllt sein)

- Hyper- oder Hypothermie >38 °C oder <36 °C
- Tachykardie: Herzfrequenz >90/min
- Tachypnoe: Atemfrequenz >20/min oder Hyperventilation (PaCO₂ < 4,3 kPa bzw. 33 mmHg)
- Leukozytose (>12.000 weiße Blutkörperchen /mm³) oder
- Leukopenie (<4.000/mm³) oder >10 % unreife neutrophile Granulozyten im Differentialblutbild

III - Akute Organdysfunktion / Schwere Sepsis (mindestens ein Kriterium muss erfüllt sein)

- Hirnschädigung (Enzephalopathie)
- Abfall der Blutplättchen (Thrombozytopenie)

- Arterielle Hypotension (systolischer arterieller Blutdruck <90 mmHg oder mittlerer arterieller Blutdruck <65 mmHg über mindestens eine Stunde trotz adäquater Volumenzufuhr → Septischer Schock)
- Sauerstoffmangel (Hypoxie)
- Akutes Nierenversagen: Diurese $<0,5$ ml/kg Körpergewicht/h für mindestens zwei Stunden, trotz ausreichender Volumensubstitution und/oder Anstieg des Serumkreatinins um das Doppelte des lokal üblichen oberen Referenzbereichs
- Metabolische Azidose: BE <-5 mmol oder Laktat $>1,5$ -facher Wert als der lokal übliche Referenzwert

Die Diagnose der Sepsis basiert auf mehreren Säulen, wobei die Feststellung der Vitalparameter und eine auf die Sepsiskriterien angepasste Laboruntersuchung mit Entzündungsparametern, Retentionswerten, Leber- und Gerinnungswerten dabei eine zentrale Rolle einnehmen. Neben den Entzündungsparametern wie die Leukozytenzahl und das C-Reaktive Protein (CRP) hat sich das Procalcitonin als geeigneter Biomarker etabliert. Es hat die größere Spezifität und Sensitivität und eignet sich zur Diskriminierung zwischen Sepsis induzierter und nichtinfektiöser Entzündung. Es hat einen prädiktiven Wert für das Outcome der Patienten und spiegelt die Effektivität der therapeutischen Maßnahmen zeitnah wieder [44, 45].

Die Häufigkeit nachgewiesener gramnegativer Infektionen auf einer Intensivstation schwankt in Abhängigkeit vom Patientengut zwischen 40% und 50%. Bei ca. 40% der Patienten mit Sepsis kann wiederum ein mikrobiologisch gesicherter Keimnachweis nicht geführt werden, auch wenn nach klinischen Kriterien eine Infektion wahrscheinlich ist. Gleichwohl wird in den S-2k Leitlinien (2010) der Deutschen Sepsis-Gesellschaft (DSG) empfohlen, bei klinischem Verdacht auf eine Sepsis bzw. bei Erfüllung der Diagnosekriterien, Blutkulturen abzunehmen (Empfehlung Grad C). Dies sollte, wenn möglich vor der Einleitung der antimikrobiellen Therapie stattfinden (Empfehlung Grad B), bei bereits vorbestehender antibiotischer Therapie unmittelbar vor der nächsten Antibiotikagabe (Empfehlung Grad E).

Ist als Ursache der Sepsis ein Keimnachweis gelungen, so sind eine frühzeitige, adäquate antibiotische Therapie und eine chirurgische Fokussanierung Grundbestandteile der Therapie.

Ein Zellwandbestandteil der gramnegativen Bakterien, das sog. Endotoxin, scheint eine wesentliche Rolle in der Pathogenese der durch gramnegative Keime hervorgerufenen Sepsis zu spielen.

In mehreren klinischen Studien konnten signifikant erhöhte Endotoxinwerte bei Patienten mit schwerer Sepsis nachgewiesen werden [46-49]. Dabei scheint ein Endotoxinspiegel von 500 pg/ml eine kritische Grenze zu markieren. Patienten mit höheren Werten wiesen ein erhöhtes Risiko für einen septischen Schock auf, als Patienten mit niedrigeren oder nicht messbaren Konzentrationen [46, 47]. Dass ein Teil des gemessenen Endotoxins jedoch aus der endogenen Flora des Gastrointestinaltraktes stammt, die im Rahmen einer Sepsis durch Translokation die Mukosabarriere überwindet und in der Blutbahn Endotoxin freisetzt, ist nicht auszuschließen.

Diskrepant ist auch, dass bei nicht jeder gesicherten gramnegativen Sepsis, messbare Endotoxinkonzentrationen nachgewiesen werden können. In einer Studie mit 100 Patienten, die einen septischen Schock aufwiesen, konnte lediglich bei 19 Patienten eine gramnegative Bakteriämie nachgewiesen werden, bei 81 hingegen nicht [47]. Bei 32 von 81 Patienten ohne gramnegative Bakteriämie und bei 11 von 19 Patienten mit gramnegativer Bakteriämie waren messbare Endotoxinkonzentrationen nachweisbar. Die Autoren diskutierten hier als mögliche Ursache, zum einen Unzulänglichkeiten des zur Endotoxinmessung angewandten LAL-Tests und zum anderen die niedrige bzw. fehlende Sensitivität der Blutkulturen für den Nachweis einer Bakteriämie.

Der Limulus-Amöbozyten-Lysat-(LAL-)Test, der bisher in den meisten Studien zur Endotoxinbestimmung angewandt wurde, ist mit mehreren Problemen behaftet. Diesem Test liegt die Beobachtung zugrunde, dass die Lipid A Komponente des Endotoxins selektiv die Gerinnungskaskade der Limulus-polyphemus-Krabbe aktivieren kann. Falsch positive Ergebnisse können aber durch Zellwandbestandteile sowohl von grampositiven als auch von Candida-Spezies hervorgerufen werden. Aber auch

Serumproteine können mit diesem Test interferieren, so dass nach Neutralisation dieser Proteine eine deutliche Verbesserung des Tests zu verzeichnen war. Nach Zugabe von chromogenen Substanzen zum Assay konnte die Sensitivität weiter gesteigert werden [50-52].

Das sensitivere LAL-Assay wurde in einer Studie mit 253 Patienten zum Nachweis von Endotoxin eingesetzt. Dabei wurde der Anteil von Patienten mit einem signifikant erhöhten Endotoxinspiegel mit 78,3 % angegeben. Der Median, der dabei gemessenen Endotoxinwerte lag bei 300 pg/ml. Die überlebenden Patienten wiesen dabei deutlich niedrigere Werte auf, als die Nichtüberlebenden [46].

Alle bisher bekannten Messmethoden zur Endotoxinbestimmung erfassen das membrangebundene, aber pathogen wirksame Endotoxin nicht, so dass die Interpretation der Plasmaendotoxinbestimmung kritisch erfolgen sollte. Dennoch spielt das Endotoxin als Signalmolekül in der Aktivierung des unspezifischen Immunsystems eine zentrale Rolle.

Strategien zur Elimination und Antagonisierung des Endotoxins sind seit langem Gegenstand der klinischen Forschung, wobei sie bisher keine große Bedeutung in der ergänzenden Sepsisbehandlung erlangt haben.

Zur Untersuchung der molekularen Mechanismen in der Sepsisentstehung ist jedoch die Applikation von Endotoxin in Tiermodellen zum Standard geworden.

3.1.1 Entzündungsparameter und potentielle Sepsismarker

3.1.1.1 Das C-reaktive Protein (CRP)

Das CRP ist ein in der Leber synthetisiertes Protein, das zur Gruppe der sog. Pentraxine gehört. Es gehört gemeinsam mit einer Reihe anderer Proteine (z.B. Fibrinogen, Haptoglobin, Ferritin, etc.) zur Familie der Akute-Phase-Proteine, deren Serumkonzentrationen im Rahmen von inflammatorischen Erkrankungen ansteigen. Dabei stellen bakterielle Infektionen den stärksten Stimulus dar. Die Höhe der CRP

Konzentration im Blut wird zur Beurteilung des Schweregrades der entzündlichen Erkrankung herangezogen, wobei der Anstieg der Serumkonzentration eine Latenz von ca. 12 – 24 Stunden zur Krankheitsaktivität aufweist. Das CRP dient als ein Teil des Immunsystems zur Opsonierung und somit zur Aktivierung des Immunsystems. Das Interleukin 6 (IL-6) stellt den stärksten Stimulus zur Expression des CRP`s in der Leber dar [53-57].

Das CRP wurde erstmals von W.S. Tillett und T. Francis junior beschrieben. Seinen Namen erhält das Molekül durch die Eigenschaft an das C-Polysaccharid der Zellwand von *Streptococcus pneumoniae* zu binden [58]. Neben der Temperaturerhöhung und Leukozytenanstieg ist das CRP in der klinischen Routine der gebräuchlichste Entzündungsparameter. Der Normwert im Plasma liegt unter 10mg/ml [59].

Die Synthese des Proteins wird unter anderem durch akute und chronische Entzündungen, Autoimmun- und Immunkomplexerkrankungen, maligne Erkrankungen, Traumata oder Gewebnekrosen und am stärksten durch bakterielle Infektionen (bis zu 2000-facher Anstieg) initiiert. [60]

3.1.1.2 Interleukin 6 (IL-6)

Das aus einem Propeptid gespaltene Interleukin 6 (IL-6) ist ein aus 184 Aminosäuren bestehendes Glykoprotein [61, 62]. Die Interleukine, umfassender auch Zytokine genannt, regulieren die Entzündungsreaktion des Organismus. Das IL-6 hat, durch die Art seiner komplexen Regelung und Funktionen, eine zentrale Rolle in Bezug auf den Übergang von Mechanismen der angeborenen Immunität, hin zu Mechanismen der erworbenen Immunität innerhalb des inflammatorischen Vorgangs [63].

Es wird neben den T-Zellen auch von Makrophagen, Fibroblasten, Endothelzellen und Granulozyten produziert, ist jedoch nicht spezifisch für bakterielle Infektionen. Es bewirkt nicht nur die Sezernierung von Akut-Phase-Proteinen, sondern vermag auch die T-Zellen zu aktivieren, Knochenmark zu modulieren, Hämatopoese anzustoßen und die Immunglobulinsynthese zu initiieren [64].

Wenn Makrophagen, im Rahmen der angeborenen Immunantwort, durch die Bindung von Endotoxin an das Toll-Like-Rezeptor 4 Protein (TLR 4) aktiviert werden, kommt es zur Ausschüttung von sogenannten „Alarminen“ wie Interleukin 1 (IL-1) und TNF- α ,

die wiederum die Synthese sowohl von pro- als auch antiinflammatorischen IL-6 zur Folge haben. Letzteres induziert über eine Signaltransduktion mithilfe des Glykoproteins gp130 die Expression von Akut-Phase-Proteinen wie z.B. das CRP [24, 63, 65].

Die Eigenschaft, dass das IL-6 schon innerhalb einer Stunde nach Antigenexposition des Organismus erhöht messbare Werte aufweist und somit die diagnostische Lücke bis zum Anstieg der Akut-Phase-Proteinen schließt, macht es in der Infektionsdiagnostik attraktiv. Beim gesunden Probanden liegen die Werte zwischen 2,6 bis 11,3 ng/l [66]. Persistierend hohe IL-6 Spiegel können auf das Vorliegen einer bakteriellen Infektion deuten, wobei der Parameter im Hinblick auf die Spezifität und Sensitivität der Sepsis-Diagnostik dem Procalcitonin nicht überlegen ist [66]. Auch wenn das IL-6 eine Infektion sehr rasch anzuzeigen vermag, muss vor dem Hintergrund seines mannigfaltigen, immunomodulatorischen Wirkspektrums, seine Eignung zur Feststellung der schweren Sepsis und des septischen Schocks als solche kritisch hinterfragt werden.

3.1.1.3 PCT

Procalcitonin stellt die Vorstufe des Calcitonins dar, das sowohl in den speziellen C-Zellen der Schilddrüse, aber auch im Falle einer systemisch inflammatorischen Reaktion in anderen Körpergeweben (wie z.B. Leber, Lunge etc.) gebildet wird [67-69]. Das Propeptid ist ein aus 116 Aminosäuren bestehendes und 13kD schweres Glykoprotein, durch dessen Spaltung neben Calcitonin auch Katalcalcin und ein Aminosäurerest entstehen [70]. Im Gegensatz zur kurzen Halbwertszeit des Calcitonins von ca. 10 min. ist die Halbwertszeit von PCT 25-30 Stunden [71]. Bei gesunden ist die PCT Konzentration 0,05 ng/ml und somit niedriger als die Nachweisgrenze herkömmlicher Methoden (<0,1 ng/ml).

1993 wurde das PCT als Laborparameter bei Patienten mit einer bakteriellen Infektion beschrieben [72]. Das Endotoxin (LPS) der gramnegativen Bakterien ist eines der stärksten Induktoren der PCT Ausschüttung [73-77]. Experimentell konnte ein PCT Anstieg 4 Stunden nach einer LPS Exposition beobachtet werden, wobei ein Maximalwert nach 2 weiteren Stunden erreicht wurde [78]. Der Wert kann, je nach Genese, auf das 100 bis 1000-fache der Norm ansteigen [72, 79, 80]. Aber auch

Traumata, Verbrennungen und größere operative Eingriffe können zu einem moderaten Anstieg des PCT Wertes führen [81-83]. Das PCT zeichnet sich, im Gegensatz zu CRP, durch eine höhere Spezifität und Sensitivität aus (89–96% respektive 78–94%) und durch einen rascheren Anstieg. Plasmakonzentrationen von mehr als 2ng/ml deuten auf eine hohe Wahrscheinlichkeit einer septischen Erkrankung, wobei Werte unter 0,5ng/ml eher gegen eine infektiöse Erkrankung sprechen [84].

Diskrepanz ist, dass andere Autoren den optimalen PCT Wert zur Unterscheidung von infektiösen von nichtinfektiösen Ursachen bei Patienten aller Fachrichtungen bei 0,6ng/ml sehen [85]. Dabei ist es von zentraler Bedeutung, dass ein solcher „Cutt-off“ Wert, je nach Ursache, erhebliche Variationen zeigen kann [86]. So zeigte sich in einer Studie aus dem Klinikum Großhadern zur Risikostratifizierung der postoperativen Mortalität, dass der „Cutt-off“ Wert bei unselektierten, chirurgischen Intensivpatienten bei 1,44 ng/ml liegt. Bemerkenswerterweise war das PCT anderen Prädiktoren wie dem Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II Score (APACHE II) und dem IL-6 überlegen [87]. Zur Sicherung der Diagnose und zum Ausschluss einer schweren Sepsis wird in der aktuellen Sepsisleitlinie von 2010 eine frühzeitige PCT Bestimmung empfohlen.

3.1.1.4 High-Mobility-Group-Protein B1 (HMGB1)

HMGB 1 gehört zu der Gruppe der *high-mobility group box proteins*, der DNA-bindenden Proteine. Die Codierung erfolgt auf 13q12 und besteht aus 215 Aminosäuren. Die molekulare Masse beträgt 24.762 Dalton und weist eine elektrophoretische Wanderung bei 30 kDa [88].

HMGB 1 wird u.a. von aktivierten Immunzellen wie z.B. von Makrophagen, Monozyten und dendritischen Zellen sezerniert [89]. Ferner wird es bei Untergang von Zellen, wie z.B. im Rahmen einer Ischämie oder Nekrose, freigesetzt und fungiert unter anderem auch als ein körpereigener, physiologischer Alarmstoff. Somit kann man verstehen, dass eine hohe HMGB-1 Konzentration im Blut auf eine gravierende, meist letal endende Krankheit hindeutet [90, 91].

In der Zusammenschau dieser Informationen kann man schlussfolgern, dass ein HMGB-1 Anstieg im Serum, neben dem aktivierten Immunsystems auch den Zelluntergang anzeigt.

3.1.1.5 Lipopolysaccharid-bindendes Protein (LBP)

Das Lipopolysaccharid-bindende Protein (LBP) gehört zu den Glykoproteinen, die als Akut-Phase-Proteine eine zentrale Rolle in der Abwehr von Infektionen einnehmen. Das LBP wurde erstmalig im Jahre 1986 beschrieben und aus dem Akut-Phase Serum von Hasen isoliert [92].

Das LBP wird in der Leber von den Hepatozyten als ein großes Polypeptid mit der Größe von 50kD synthetisiert, welches nach der Glykosylierung eine Größe von 60kD beträgt und in die Strombahn sezerniert wird [92-94].

Die Serumkonzentration liegt beim Gesunden 3–15 µg/ml, wobei die Sezernierung in den Blutstrom kontinuierlich stattfindet [46, 95, 96]. Dabei sind neben dem LPS auch die von den Makrophagen gebildeten IL-6 und IL-1 die Hauptstimuli für die Synthese und Sezernierung des LBP [97]. Auch wenn bereits nach 15–30 Minuten nach Stimulation ein LBP-Anstieg zu beobachten ist, signifikant hohe Werte finden sich erst etwa nach 2–6 Stunden und sind somit ca. 12–24 Stunden vor dem CRP Anstieg zu beobachten. Maximal hohe Werte sind nach 24–48 Stunden zu erwarten. Diese können im septischen Schock bei Immunkompetenten durchaus Werte von 40–60µg/ml erreichen [98].

Das Lipopolysaccharid-bindende Protein bindet mit hoher Affinität an die Lipid-A-Untereinheit des LPS und monomerisiert die LPS-Multimere [99]. Dadurch wird die Sensitivität der Zellen dem LPS gegenüber gesteigert. In einem weiteren Schritt wird das Endotoxin (LPS) durch das LBP zur Zellmembran von Makrophagen, Monozyten und Granulozyten transportiert [100].

3.1.1.6 Lipopolysaccharid (Endotoxin)

Da bereits unter Punkt 1.4.1 das Endotoxin ausführlich beschrieben wurde, wird an dieser Stelle auf eine erneute ausführliche Beschreibung verzichtet.

Das Endotoxin ist ein Lipopolysaccharid, das aus einem hydrophilen Polysaccharid- und einem lipophilen Lipidanteil aufgebaut ist. Es weist ein Molekulargewicht von ca. 10.000 Dalton auf und ist in der äußeren Membran gramnegativer Bakterien lokalisiert.

Endotoxine sind, im Gegensatz zu den Bakterien, aus denen sie stammen, sehr hitzestabil und bestehen aus den drei Hauptbestandteilen O-Polysaccharid, Core-Oligosaccharid und der Lipid-A-Struktur.

3.1.1.7 Laktat

Das Laktat ist das Salz der Milchsäure. Da es im Organismus unter Sauerstoffmangel vermehrt gebildet wird, kann es als Ischämiemarker verwendet werden.

Lavery zeigte im Jahr 2000, dass das in der Ambulanz/dem Trauma Center gemessene Laktat einen exzellenten Parameter zur Triage von Trauma-Patienten darstellt, insbesondere bei stumpfen Verletzungsmustern [101].

3.1.1.8 Copeptin

Das Copeptin besteht aus 39 Aminosäuren und entsteht durch eine schrittweise Proteolyse eines Prohormons, welches im Hypothalamus gebildet wird. Dabei wird in äquimolaren Mengen Vasopressin, Copeptin und Neurophysin II freigesetzt. Anders als das hormonell wirksame Vasopressin (neun Aminosäuren), ist das Copeptin im Serum deutlich länger (sieben Tage) stabil. Aufgrund dieser Eigenschaften eignet es sich hervorragend als alternativer Biomarker zur Vasopressin-Bestimmung zur Diagnostik verschiedener Erkrankungen [102]. Copeptin Konzentrationen im Serum sind bei Individuen mit schwerem Krankheitsbild wie z.B. Sepsis, aber z.B. auch bei Herzinsuffizienz, erhöht.

3.1.1.9 NT-proBNP

Brain Natriuretic Peptide (BNP) ist ein aus 32 Aminosäuren bestehendes Protein, welches im Myokard synthetisiert wird. Es entsteht durch die intrazelluläre Spaltung des inaktiven, aus 108 Aminosäuren bestehenden Precursorproteins proBNP. Dabei entsteht in äquimolaren Mengen BNP und NT-proBNP. In zahlreichen Untersuchungen konnte belegt werden, dass das NT-pro BNP ein sensitiverer Marker für die Diagnostik der Herzinsuffizienz darstellt als das BNP [103, 104].

Als Normwert bei Gesunden wurde durch die Europäische Gesellschaft für Kardiologie für BNP <100 pg/ml und für NT-proBNP <400 pg/ml festgelegt [105].

Das BNP wirkt über die Aktivierung der membranständigen Guanylylzyklase, die zur vermehrten Bildung von cGMP sowie über die weitere Signalkaskade zu einer Abnahme der intrazellulären Calciumkonzentration führt. Die dadurch hervorgerufene Relaxation der glatten Muskulatur führt wiederum zur Vor- und Nachlastsenkung. Zusätzlich wirkt das BNP in der Niere natriuretisch und diuretisch [106].

Somit ist das BNP ein vasodilatatorischer Botenstoff, der als Gegenspieler zum vasokonstriktorisch wirkenden Angiotensin II betrachtet werden kann.

3.1.1.10 Neopterin

Neopterin ist ein niedermolekularer Botenstoff mit einer Molmasse von 253Da, der von Zellen des Immunsystems (Makrophagen) während der zellulären Immunreaktion vermehrt sezerniert wird [107]. Die einfache Bestimmung in den Körperflüssigkeiten des Menschen (Blut, Urin, Liquor) beruht darauf, dass es biologisch stabil ist [108-111]. Der Normwert im Serum oder Plasma beträgt $5.2 \pm 2.5 \text{ nmol/L}$ [108].

Bei Sepsis aber auch bei der Entstehung und Verlauf anderer verschiedener Erkrankungen, wie z.B. Autoimmunerkrankungen, Abstoßungsreaktionen sowie Tumorerkrankungen, spielt das zelluläre Immunsystem eine zentrale Rolle.

In Zellkulturen von humanen Makrophagen oder der myelomonozytären Zelllinie THP-1 wurde Interferon- γ als das wesentliche Zytokin identifiziert, das zu einer direkten Stimulation der Neopterinbildung führt [112].

Die Bestimmung des Serumneopterins eignet sich hervorragend für die Bestimmung des Aktivierungszustandes des zellulären Immunsystems, wobei dabei kein zelluläres Material benötigt wird. Im Normalzustand beträgt der Anteil im Blutserum weniger als 10 nmol/l .

Auch kann mit der Neopterinbestimmung zwischen bakteriellen und viralen Infektionen differenziert werden, da bei Virusassoziierten Infektionen ein früherer Anstieg des Neopterinspiegels beobachtet wird [113, 114].

Somit hat das Neopterin-screening eine hohe Wertigkeit zur Überwachung respektive Früherkennung von immunologischen Komplikationen bei transplantierten Patienten [115, 116].

Zusammenfassend kann konstatiert werden, dass das Ausmaß der Neopterinbildung die Summe der positiv- und negativ-regulierenden Einflüsse auf die mit Interferon- γ aktivierte Monozyten respektive Makrophagenpopulation widerspiegelt [117-119].

3.2 Chirurgische und antibiotische Therapie und dadurch induzierte Endotoxinämie

Frühzeitige Einleitung einer antibiotischen Therapie ist wesentlicher Bestandteil der modernen Sepsistherapie. In einer retrospektiven Kohortenstudie untersuchten Kumar und seine Mitarbeiter im Jahre 2006 mehr als 2731 Patienten mit septischem Schock. In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass Patienten mit einer rasch eingeleiteten antibiotischen Therapie ein deutlich besseres „Outcome“ hatten als solche mit verzögerter Therapie [120].

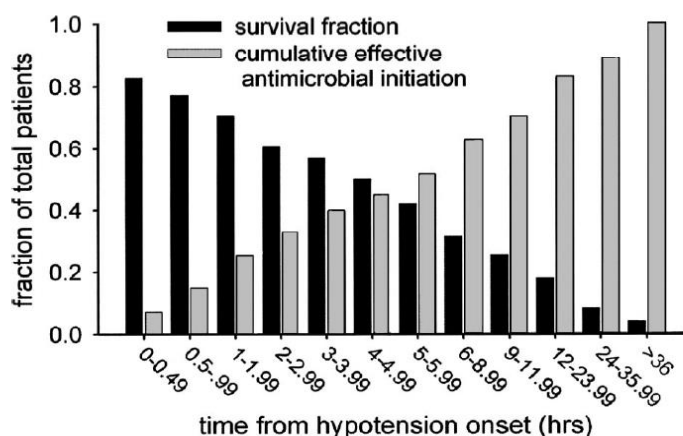


Figure 1. Cumulative effective antimicrobial initiation following onset of septic shock-associated hypotension and associated survival. The x-axis represents time (hrs) following first documentation of septic shock-associated hypotension. *Black bars* represent the fraction of patients surviving to hospital discharge for effective therapy initiated within the given time interval. The *gray bars* represent the cumulative fraction of patients having received effective antimicrobials at any given time point.

Abbildung 13: A. Kumar et al. [120]

Anhand dieser Daten konnte er postulieren, dass nach Einsetzen von Schocksymptomen, mit jeder Stunde Verzögerung der antibiotischen Therapie, die Überlebensrate der Erkrankten um ca. 7,6 % sank. Bei Patienten, die innerhalb der ersten halben Stunde einer antibiotischen Therapie zugeführt wurden, war die Überlebensrate 82,7%. 77,2% der Patienten überlebten die Sepsis, die in der darauffolgenden halben Stunde antibiotisch therapiert wurden. Somit lag die Gesamtüberlebensrate für Patienten, die innerhalb der ersten Stunde ein Antibiotikum erhielten, bei 79,9 %. Dagegen fiel das Gesamtüberleben bei Patienten, denen erst in der sechsten Stunde eine antimikrobielle Therapie appliziert wurde auf eine Rate von nur noch 42 %[120].

Das Einleiten einer antibiotischen Therapie bei septischen Patienten kann zunächst zu einer Verschlechterung des Patientenzustandes mit dramatischem Anstieg der Körpertemperatur und Blutdruckabfall führen. Dieses Phänomen wurde, im Rahmen von bakterizider Behandlung von Syphilis-Patienten mit arsenhaltigen Wirkstoffen, erstmals von Jarisch und Herxheimer beobachtet und beschrieben [121, 122]. Die nach den Erstbeschreibern benannte Reaktion wurde auch nach der Gabe von antimikrobiellen Substanzen, wie Penicillin und Doxycyclin, beobachtet [123, 124]. Im Rahmen der Jarisch-Herxheimer-Reaktion (JHR) konnte bei Patienten ein vorübergehender Anstieg von Endotoxin beobachtet werden, wobei die Endotoxinfreisetzung stark zwischen einzelnen antibiotischen Substanzen differierte [124]. Es scheint, dass insbesondere β -Laktam-Antibiotika, die an das Penicillin-bindende Protein-3 andocken, zu einer hohen Endotoxinfreisetzung führen. So ist es nicht verwunderlich, dass in-vitro- und in-vivo-Studien zeigten, dass eine inadäquate antibiotische Therapie, bei Patienten mit einem gramnegativen Infektionsherd, zu einer hohen Letalität führt [125-127]. In den bisher durchgeführten klinischen Sepsisstudien wurde die antibiotische Therapie leider nicht mitberücksichtigt, wobei hierdurch ein nicht einschätzbare Bias entstanden sein könnte. Eine Übersichtsarbeit von Lepper et al. aus dem Jahre 2002 zeigt dies deutlich [128].

4 Fragestellung und Ziel der Arbeit

Wie eingangs bereits erwähnt, ist die Therapie der Sepsis, schwerer Sepsis und des Multiorganversagens, trotz aller Fortschritte, eine große Herausforderung in der Intensivmedizin, die auch unter Verwendung aller aktuell möglichen therapeutischen Optionen mit einer schlechten Prognose einhergeht. Die Letalität der Sepsis ist mit ca. 30% nach wie vor sehr hoch und ist nach Herz-Kreislauf- und malignen Erkrankungen die dritthäufigste Todesursache in Deutschland [14, 15]. Demzufolge sind das frühzeitige Erkennen einer septischen Reaktion und das rasche Einleiten entsprechender therapeutischer Maßnahmen für das Outcome der Patienten von entscheidender Bedeutung.

Vor diesem Hintergrund und aufgrund aktueller Entwicklung einer neuen, hoch sensitiven Messmethode, die in den USA die FDA Zulassung erhalten hat, ist die Endotoxinbestimmung bei kritisch Kranken wieder ins Zentrum des Interesses gerückt. Der von Spectral Diagnostics Inc. entwickelte Endotoxin-Aktivitätsassay (EAA TM) basiert auf einem ex-vivo Nachweis des Endotoxins aus dem Vollblut. Dabei wird nach Komplement vermittelter Opsonierung eines LPS-IgM-Immunkomplexes unter Ausnutzung des „Respiratory Burst“ der neutrophilen Granulozyten die Endotoxinaktivität bestimmt. In Anwesenheit des Immunkomplexes kommt es zur Freisetzung von Sauerstoffradikalen, die wiederum zu einer Lumineszenzreaktion führen. Die mittels eines Luminometers gemessenen, relativen Lichteinheiten („Relative Light Units“, RLU) werden in einen Wert umgerechnet, der die Endotoxinaktivität als prozentualen Anteil der maximal möglichen Endotoxinaktivität (0–100%) angibt.

Daher liegen der vorliegenden Arbeit folgende Fragestellungen zugrunde:

- Wie ist die prognostische Relevanz der Endotoxinmessung bei Patienten mit intraabdominellen Infektionsherd?
- Welche Bedeutung hat der EAA zur Erfolgskontrolle einer operativen oder antimikrobiellen Therapie?
- Ist der EAA als Meßparameter innerhalb des Mannheimer Peritonitis Index potentiell geeignet?

5 Material und Methodik

5.1 Studiendesign und Patientenkollektiv

Die Studie wurde zunächst als eine monozentrische Studie in der Chirurgischen Klinik im Klinikum Großhadern konzipiert, wurde aber dann auch auf das Klinikum Augsburg ausgeweitet. Somit ist die Studie als eine multizentrische, prospektive Beobachtungsstudie zu bezeichnen. Eingeschlossen wurden volljährige Patienten mit einem operationspflichtigen, intraabdominellen Infekt, die schriftlich zur Verwendung ihrer Daten für die Studie eingewilligt hatten. Die meisten, einwilligungsfähigen Patienten gaben ihr Einverständnis entweder bereits in der Notaufnahme oder auf der Normalstation, vor dem ersten operativen Eingriff oder einer operativen Revision. Diejenigen, die aufgrund der Schwere der Erkrankung nicht einwilligungsfähig waren, wurden nach Absprache mit den Angehörigen, in die Studie aufgenommen. Bei diesen Patienten wurde nach ihrer Genesung die Einwilligung nachgeholt. Bei verstorbenen Patienten wurden die nächsten Angehörigen zur endgültigen Einwilligung herangezogen.

Aus der Studie wurden Schwangere, Patienten, die nicht geschäftsfähig oder jünger als 18 Jahren waren, sowie Kranke, die zur Verwendung ihrer Daten keine Einwilligung gaben, ausgeschlossen. Insgesamt sollten innerhalb von 18 Monaten ca. 30 Patienten Klinikum Augsburg in die Studie eingeschlossen werden.

Nach Erfüllen der Einschlusskriterien und fehlender Ausschlusskriterien sowie nach ausführlicher schriftlicher und mündlicher Aufklärung mit schriftlicher Einverständniserklärung wurden die Patienten anonymisiert in die Studie eingeschlossen. Den Patienten wurde eine fortlaufende Studiennummer zugeordnet.

5.1.1 Zeitraum der Datenerhebung

Der Beobachtungszeitraum begann am Tag der Diagnosestellung und umfasste die postoperativen Tage bis zur Entlassung aus der Intensivstation oder endete mit dem Tod des Patienten. Ab Tag 0 (Diagnosestellung) wurden 20 ml (2 x 10 ml EDTA-Blut) Blut/d abgenommen. Daraus wurde neben der Endotoxinbestimmung mittels Endotoxin-Aktivitätsassay (EAA [™], Spectral Diagnostics Inc.) auch LBP,

Leukozytenzahl, CRP, PCT, IL-6, HMGB-1, Neopterin, BNP, Laktat sowie Cholesterin bestimmt.

Ferner wurden die Patienten prä- und postoperativ auf der Intensivstation überwacht. In dieser Zeit wurden alle Vitalparameter (Blutdruck, Puls, Temperatur), qualitative und quantitative Nierenfunktion mittels Laborwerte und Ausscheidung, respiratorische Funktion (Atemfrequenz, FiO_2 , Beatmungsform, Horowitz-Quotient) sowie Leberfunktion (Laborwerte) überwacht und im Verlauf täglich dokumentiert.

5.1.2 Übersicht des Beobachtungszeitraumes:

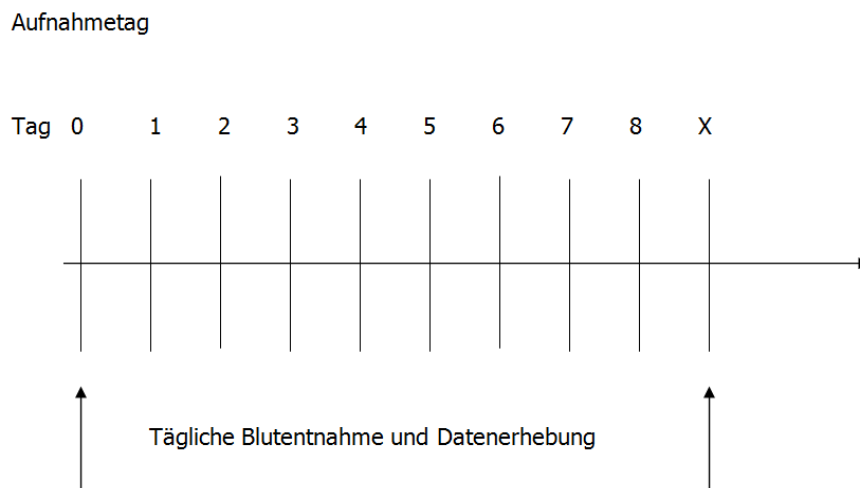


Abbildung 14: Beobachtungszeitraum

5.2 Der Endotoxin Aktivitätsassay (EAA TM)

Der Endotoxin Aktivitätsassay ist ein kommerzieller Testkit, der im Gegensatz zu früheren Nachweisverfahren ($t > 2$ h beim LAL-Test) in einem relativ kurzen Zeitraum ($t = \text{ca. } 30$ min) durchführbar ist und ist somit als Point-of-Care-Test geeignet. Seit 2006 besteht eine FDA Zulassung.

Das Verfahren macht sich die physiologische Produktion von Sauerstoffradikalen der Granulozyten zunutze. Der Test basiert insbesondere auf der exzessiven Freisetzung von Sauerstoffradikalen im Rahmen eines oxidativen Bursts der polymorphkernigen Neutrophilen. Im Zusammenhang mit der Phagozytose steigt der Sauerstoffverbrauch der Granulozyten auf einen 50- bis 100-fachen Wert an, was zur Bildung verschiedener

reaktiver Sauerstoffspezies führt. Der respiratorische (=oxidative) Burst wird durch einen „Stimulus“ in Gang gesetzt, der zur Entstehung von verschiedenen Sauerstoffradikalen, wie z. B. Hyperoxidanion, Sauerstoffperoxid etc. führt. Durch letztere entsteht in Anwesenheit von Luminol (3-Aminophthalhydrazid) mittels Chemolumineszenz sichtbares Licht, dessen Intensität gemessen werden kann.

Das Agens, das die polymorphkernigen Neutrophilen zum oxidativen Burst stimuliert, ist der Antigen-Antikörper Komplex, bestehend aus dem Endotoxin (LPS) und einem mit C3b und iC3b opsonierten IgM Antikörper. Zur Unterstützung der Reaktion wird Zymosan eingesetzt.

Der EAA Kit enthält murine Anti-LPS-Antikörper, Zymosan, welches mit humanem Komplement opsoniert wurde sowie Luminol. Wenn Patientenblut mit den chemischen Substanzen des Testkits vermischt wird, reagieren diese mit dem im Blut vorhandenen Endotoxin. D. h. die Anti-LPS-Antikörper binden an ihr Antigen, dem Lipopolysaccharid. Dieser Antigen-Antikörper Komplex stimuliert mit Zymosan die Granulozyten zur Bildung von Sauerstoffradikalen. Letztere rufen zusammen mit Luminol eine Oxidationsreaktion hervor, so dass es zur Chemolumineszenz kommt. Die dabei emittierte Lichtmenge kann gemessen werden und ist in einem bestimmten Konzentrationsbereich zur Endotoxinkonzentration proportional.

Der EAA zur Endotoxinbestimmung basiert somit auf zwei Grundmechanismen:

- a. Freisetzung von Sauerstoffradikalen nach Kontakt von Antigen-Antikörper Komplexen mit Neutrophilen -> Respiratorischer Burst
- b. Emission von Licht (Chemolumineszenz) in Anwesenheit von Oxyradikalen und Luminol (3-Aminophthalhydrazid).

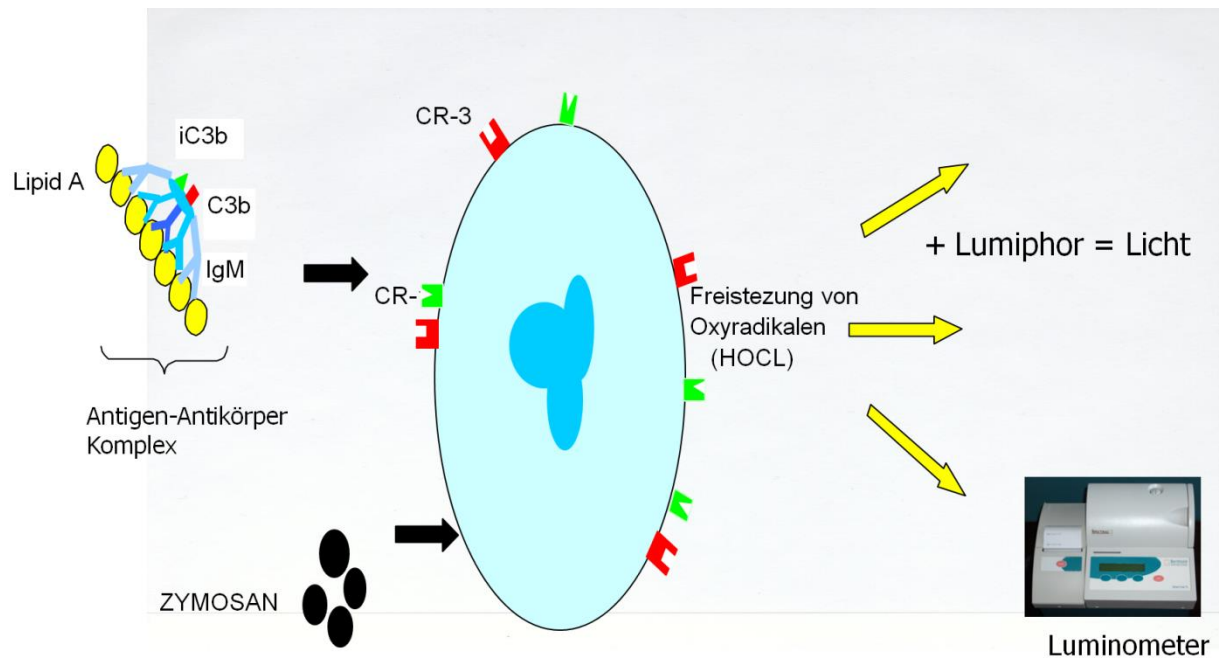


Abbildung 15: Testprinzip des Endotoxin-Aktivitätsassays (EAA TM)

5.2.1 Materialien

- Vortex VX-100; (Labnet International Inc., Edison, NJ, USA)
- Incubating Mini Shaker (VWR International LLC, West Chester, PA, USA)
- Smartline EAA Luminometer, (Berthold Detection Systems GmbH, Pforzheim)
- Pipetten; (Eppendorf AG, Hamburg)
 - Eppendorf Research 10µl,
 - Eppendorf Research 100µl,
 - Eppendorf Research 1000µl
- Eppendorf-Multipipette plus; (Eppendorf AG, Hamburg)
- Pipettenspitzen;
 - epTIPS 50-1.000µl,
- Biopur Combitips plus 0,5ml; (Eppendorf AG, Hamburg)

5.2.1.1 Luminometer

5.2.1.2 Reaktionsröhrchen

Die von der Firma Spectral Diagnostics Inc. hergestellten Reaktionsröhrchen sind farblich markiert und enthalten lyophilisierte, also gefriergetrocknete Reagenzien zur Durchführung des Assays.

Das erste Röhrchen ist rot markiert, enthält nur Luminol und Zymosan. Bei fehlenden Antikörpern dient es somit der Messung der nicht spezifischen, basalen Aktivität der patienteneigenen, neutrophilen Granulozyten.

Das zweite Röhrchen ist blau markiert, enthält neben dem IgM Antikörper gegen das LPS auch Zymosan und Luminol. Es dient der Messung des endogenen Endotoxins.

Das dritte Röhrchen ist schwarz markiert, enthält neben Zymosan, Luminol und dem IgM-Antikörper gegen das LPS, zusätzlich eine hohe Anzahl von exogenem Endotoxin, um den maximalen oxidativen Burst der neutrophilen Granulozyten zu messen. Alle Messungen werden zur Kontrolle zweimal (deshalb jeweils 2 Röhrchen) vorgenommen.



Abbildung 16: Reaktionsröhrchen zur Durchführung des EAA

5.2.1.3 Kreisschüttler-Inkubator

Der Schüttler-Inkubator der Firma VWR® wurde uns von der Firma Menarini® zur Verfügung gestellt. Am Gerät wurde die Temperatur auf 37 Grad Celsius, die Zeit auf 10 respektive 14 Minuten und die Umdrehung auf 100 Upm eingestellt.

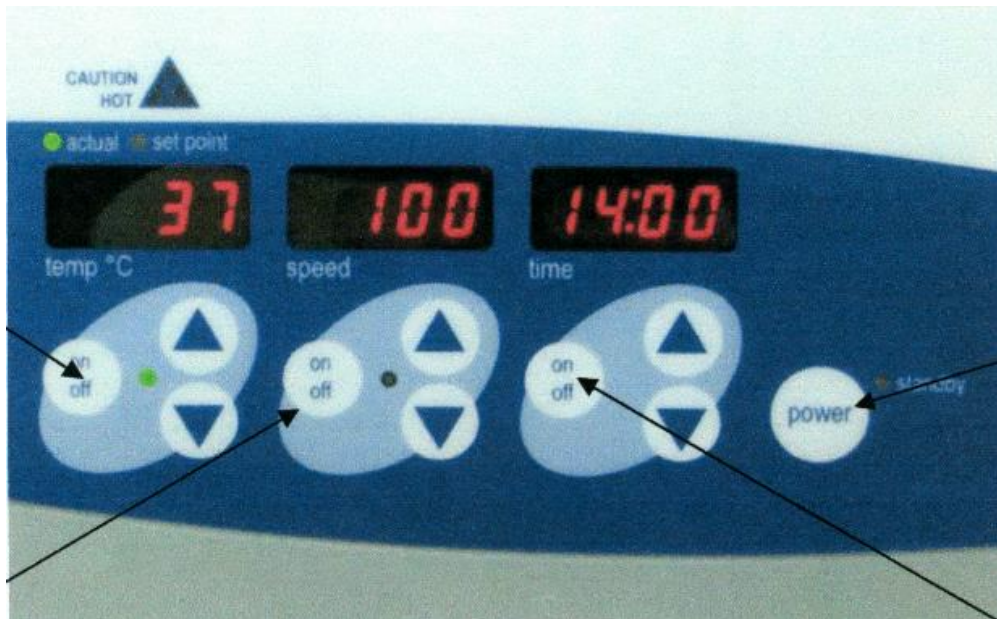


Abbildung 17: Kreisschüttler Inkubator

5.3 Durchführung der Lumineszenzreaktion und Messung der RLU

5.3.1 Probenvorbereitung

Für die Durchführung der Endotoxin-Messung benötigt man;

- das EAA-Reagenz (Pufferlösung) aus dem EAA-Test Kit
- ein leeres Probenröhrchen (Aliquote Tube)
- ein Röhrchen mit Endotoxinüberschuss (LPS-Max Röhrchen mit 2,3ng Endotoxin von E. coli 055:B5) und
- die o.g. drei Röhrchen (1, 2 und 3) in jeweils doppelter Ausführung, welche die Reagenzien für die Lumineszenz-Reaktion enthalten.

Die zur Verarbeitungen der Flüssigkeitsvolumina verwendeten Pipettenspitzen und Behältnisse waren stets pyrogenfrei.

Nach der Blutentnahme wurden zuerst, die uns von der Firma Menarini zur Verfügung gestellten Reaktionsröhrchen, ausgepackt und in einem Rack nach vorgegebenem Schema (s.u. Pipettierschema) aufgestellt. Die Deckel der Röhrchen wurden entfernt. Anschließend wurde mit einer Multipipette 1ml Reagenzpuffer in die Reaktionsröhrchen gefüllt (je 2 x für Röhrchen 1, Röhrchen 2 und Röhrchen 3).

5.3.1.1 Erster Pipettierschritt und erste Inkubation

- Zunächst wurde 0,5ml Vollblut jeweils in das Aliquot Röhrchen (weiß) und in das LPS-Max Röhrchen (schwarz) pipettiert. Nach Vortexen (Schütteln mit einem Vortexmischer / Schüttelgerät) wurden beide Röhrchen für zehn Minuten bei 37 Grad Celsius im Kreisschüttler-Inkubator (Fa. VWR®) inkubiert.

5.3.1.2 Zweiter Pipettierschritt und zweite Inkubation

- Daraufhin wurde aus dem Aliquot Röhrchen, nach Vortexen, in beide Röhrchen 1 (rot) und Röhrchen 2 (blau) jeweils 40µl des Röhrcheninhaltes pipettiert.
- Danach wurde auch aus dem LPS-Max Röhrchen nach Vortexen in beide Röhrchen 3 (schwarz) 40µl des Röhrcheninhaltes pipettiert.
- Anschließend wurde der Testansatz für insgesamt vierzehn Minuten bei 37 Grad Celsius erneut inkubiert.

5.3.1.3 Pipettierschema

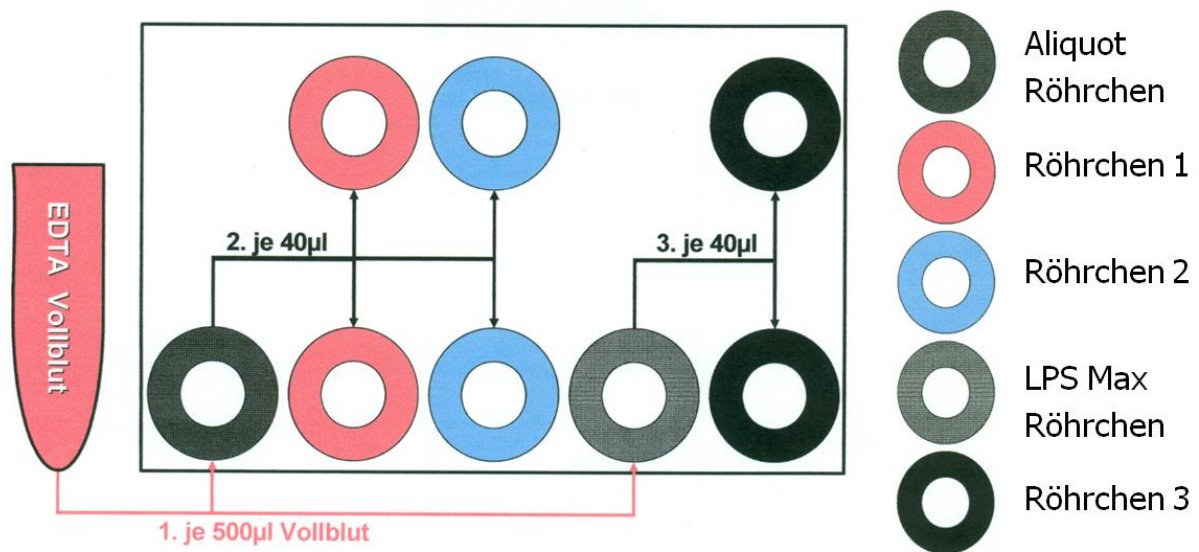


Abbildung 18: Pipettierschema

5.3.2 Messung der RLU

Nach abgeschlossener Inkubation wurden die Röhrchen zunächst gevortext, in den Probehalter des Luminometers gestellt und die Schublade verschlossen. Die Messdauer des EA-Wertes für ein Röhrchen betrug ca. 3 Sekunden. Danach erschien im Display die Aufforderung zur Einführung von Röhrchen 2 (Insert Tube 2) in den Probenhalter. Diese Arbeitsschritte wurden für Röhrchen 2 und 3 wiederholt. Anschließend erfolgte die Doppelbestimmung von Röhrchen 1–3 zur internen Qualitätskontrolle. Nachdem alle 6 Röhrchen gemessen wurden, wird das EAA™-Ergebnis mit dem EA Mittelwert und dem Variationskoeffizient (VK) in % automatisch ausgedruckt.

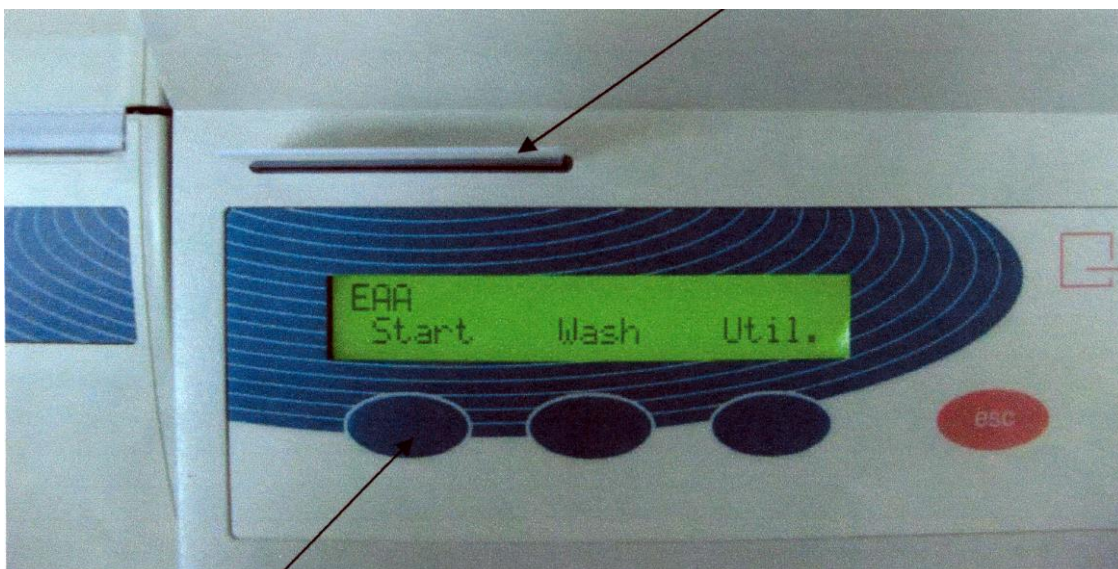




Abbildung 19: Luminometer, Firma Berthold, Smart Line TL



Abbildung 20b: Praktische Versuchsanordnung im Labor

Die Photonenmessung im roten Röhrchen (Nr.1) dient der Bestimmung der basalen Aktivität der neutrophilen Granulozyten des Patienten. Im schwarzen Röhrchen (Nr.3) misst man dagegen den maximal möglichen, oxidativen Burst der Neutrophilen. Die Messung im blauen Röhrchen (Nr. 2) dagegen gibt Aufschluss über den tatsächlichen oxidativen Burst, der letztendlich durch den im Reagenzglas befindlichen IgM-LPS-Komplex ausgelöst wird und somit zur quantitativen Bestimmung des im Patientenblut zirkulierenden Endotoxins beiträgt.

Der Wert der relativen Lichteinheit (RLU) des ersten Röhrchens (rot) wird zunächst sowohl vom Wert des zweiten (blau) als auch von dem des dritten (schwarz) Röhrchens subtrahiert. Anschließend wird die Endotoxinaktivität als prozentualer Anteil der maximal möglichen Endotoxinaktivität (0-100%) angegeben.

Somit kann das Gerät bei jedem Messvorgang, anhand der „Base-Line-Messung“ (Röhrchen 1) und der maximal möglichen LPS-Stimulation (Röhrchen 3) eine Eichkurve erstellen und errechnet mithilfe der Leuchtintensität der Probe im Röhrchen 2 einen dimensionslosen Wert, der der relativen Endotoxinkonzentration im Patientenblut entspricht.

$$EAA = \frac{sample - control}{max - control}$$

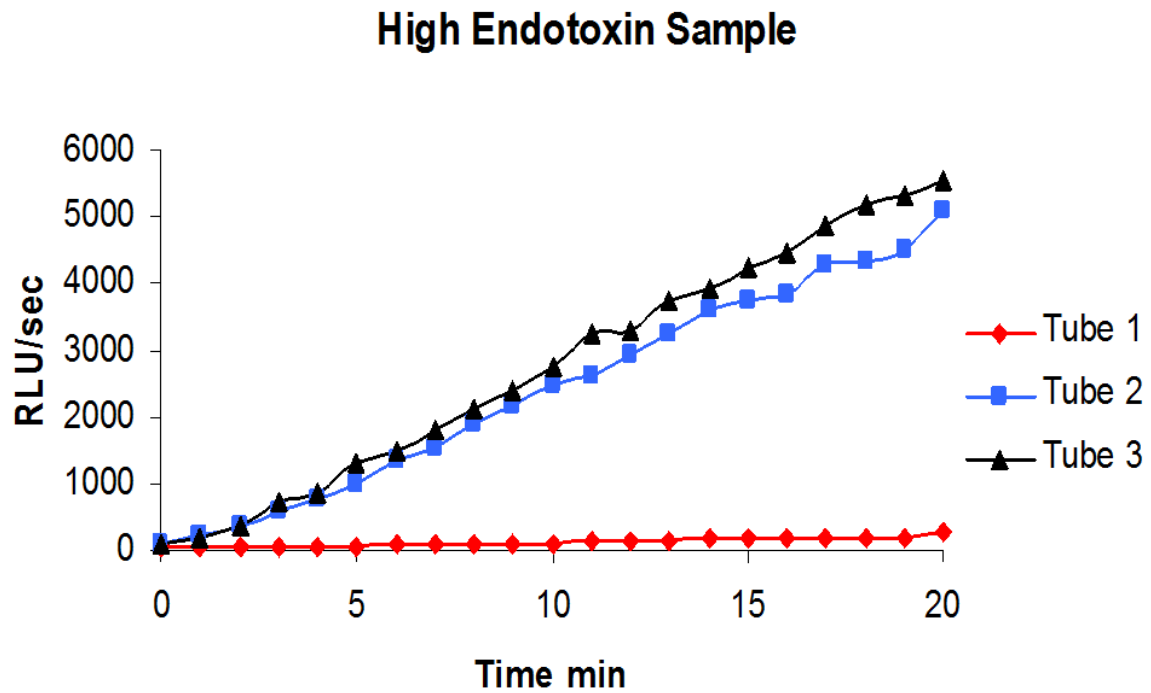


Abbildung 21: Probe mit einer hohen Endotoxinaktivität, Firma Spectral Diagnostics Inc.

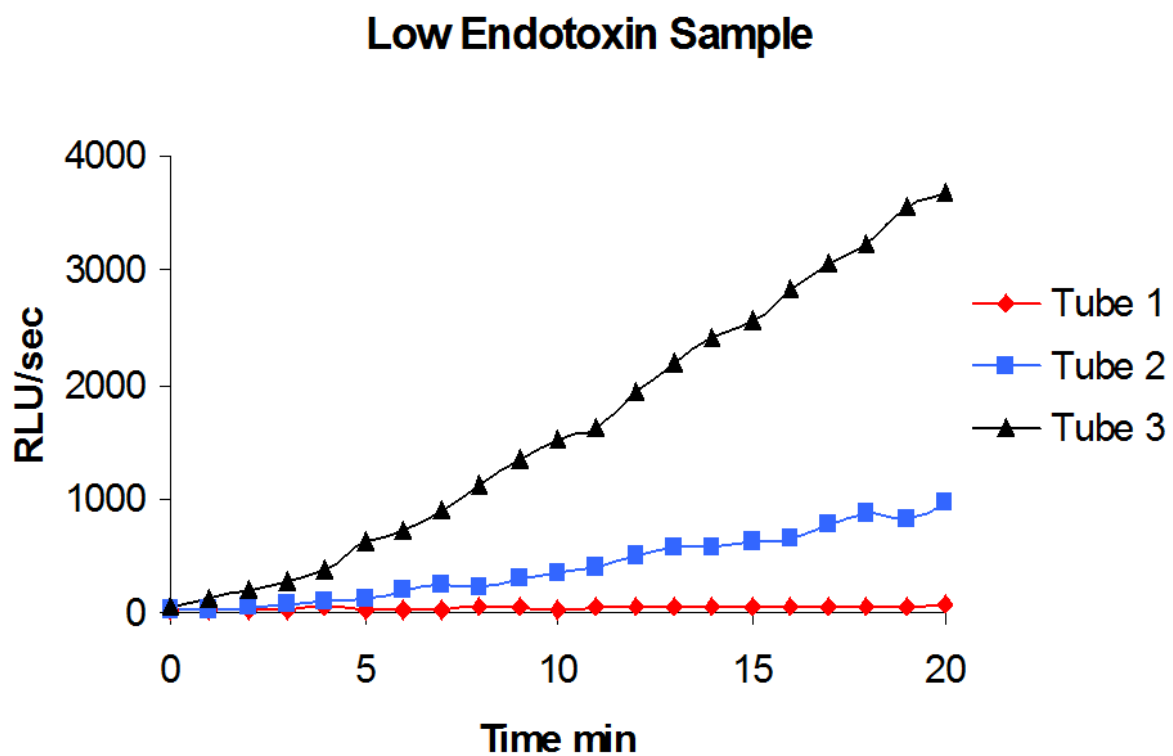


Abbildung 22: Probe mit einer niedrigen Endotoxinaktivität, Firma Spectral Diagnostics Inc.

Zur internen Qualitätskontrolle wurde jede Endotoxin-Bestimmung doppelt ausgeführt. Der Mittelwert der beiden Messwerte diente als Ergebnis. Der Messwert wurde als plausibel erachtet, wenn der Wert des Variationskoeffizienten kleiner oder gleich 0,2 betrug. Bei einem Wert von größer als 0,2 wurde die Messung wiederholt. Dieser Schwellenwert des Variationskoeffizienten wurde bereits vom Hersteller (Fa. Spectral Diagnostics Inc.) festgelegt und im Gerät (Smartline EAA Luminometer) vorprogrammiert. Um die Konsistenz der Messung sicherzustellen, wurde eine Qualitätskontrolle mithilfe vom Hersteller bereitgestellten Kits, alle 10 Messungen vorgenommen.

5.3.3 Interpretation der EAA[®]-Ergebnisse

Der EAA[™] ist ein Endotoxin Activity Assay, der die Ergebnisse in drei Intervallen zeigt. Bei EAA[™]-Units <0,40 ist von einer niedrigen Endotoxinaktivität auszugehen. Werte zwischen 0,40 – 0,59 zeigen eine mittlere Aktivität, wobei ein Wert über 0,60 auf eine hohe Endotoxinaktivität hinweist.

5.3.3.1 Festlegung des Schwellenwertes für niedrige Endotoxinaktivität

Zur Festlegung des Schwellenwertes für niedrige Endotoxinaktivität (EAA[™]-Units <0,40) wurde die Endotoxinkonzentration bei 97 gesunden Probanden gemessen. Dabei zeigte sich, dass die meisten einen niedrigen Endotoxinwert (EAA[™]-Units <0,40) aufwiesen. Dies entsprach einem Streuintervall von 2σ der Standardabweichung. Anders formuliert war zu konstatieren, dass ca. 93 % der gesunden Probanden einen Endotoxinaktivitätswert von < 0,40 aufwiesen, wobei keiner eine hohe Endotoxinaktivität (EAA[™]-Units > 0,60) aufwies [129].

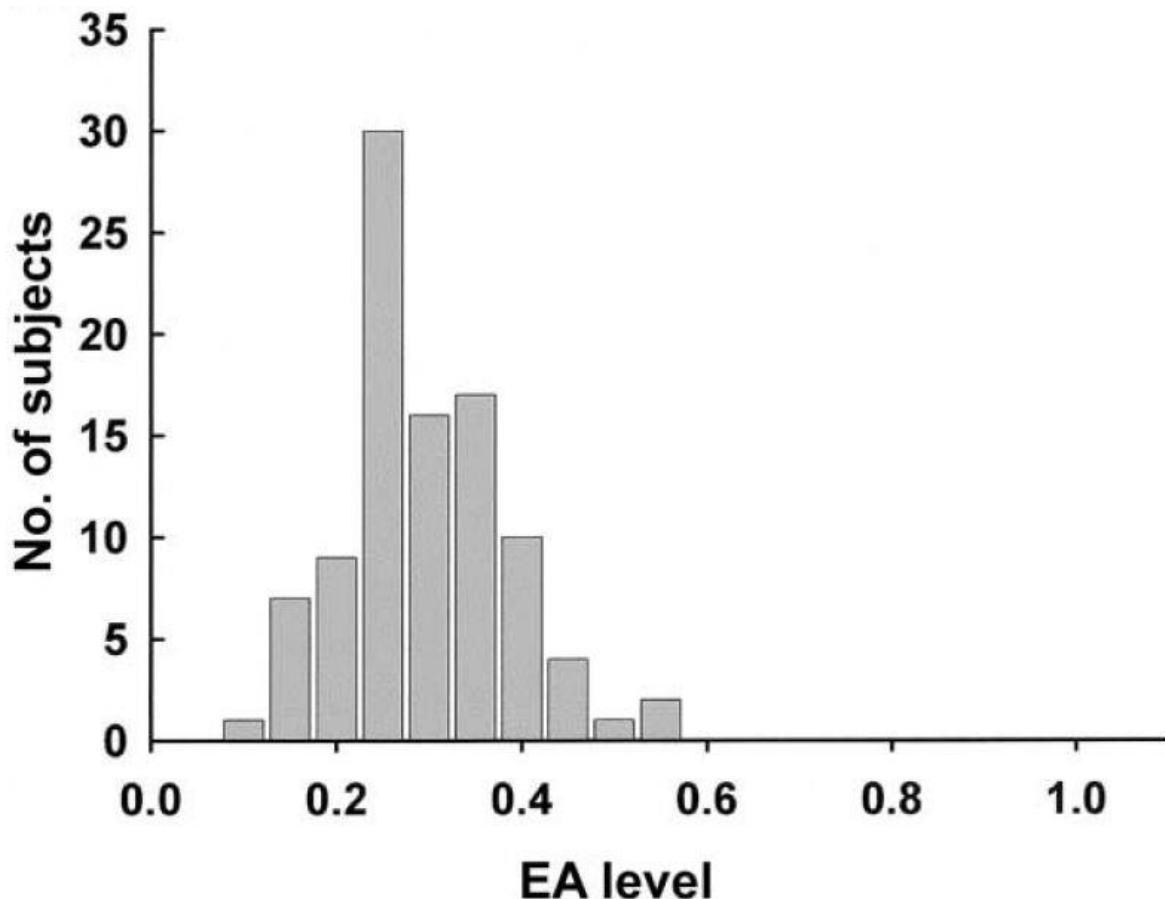


Abbildung 23: EAA™ Werte bei gesunden Probanden [129]

5.3.3.2 Determinierung der Intervallgrenzen für mittlerer und hoher Endotoxinaktivität

Die Determinierung der Intervallgrenzen des EAA™ basiert auf der Datenlage der „Multi-Center Endotoxin Detection in Critical illness“ (MEDIC) Studie. Diese wurde als eine prospektiv multizentrische Beobachtungsstudie konzipiert, wobei zur Datenerhebung insgesamt 857 kritisch kranke Patienten in zehn Universitätskliniken, sowohl in Nordamerika als auch in Europa, akquiriert wurden. Das Hauptaugenmerk richtete sich dabei auf die Beantwortung der Frage, in welchem Maß die Höhe der Endotoxinaktivität, die am ersten Tag des Aufenthaltes auf einer Intensivstation gemessen wurde, mit der Entwicklung einer schweren Sepsis innerhalb von 24 h, korrelierte [129].

Characteristic	Value
Age, years (IQR)	60.2 \pm 17.2 (49, 74)
Male, %	58.9
Nonwhite, %	15.8
Geographic origin, % (no.)	
Europe	42.5 (364)
Canada	40.0 (343)
United States	17.5 (150)
Admission severity of illness score, mean \pm SD (IQR)	
APACHE II	15.2 \pm 9.5 (8, 21)
MOD	3.9 \pm 3.4 (1, 6)
SOFA	4.9 \pm 3.9 (2, 7)
Diagnosis at admission	
Infection/sepsis	88
MI/CHF/cardiac arrest	120
Gastrointestinal/hepatic infection	28
Multiple trauma	31
Metabolic/endocrine illness	14
Neurological	95
Major elective surgery	273
Respiratory failure	128
Organ transplant	34
Other	46
Medical admission, no. (%)	450 (52.5)
Surgical admission, no. (%)	407 (47.5)
ICU length of stay, days	
Mean \pm SD (IQR)	5.4 \pm 10.9 (2, 6)
Median	2
Hospital length of stay, days	
Mean \pm SD (IQR)	23.3 \pm 27.0 (7, 29)
Median	14
Mortality, no. (%)	
ICU	114 (13.3)
Hospital	170 (19.9)

NOTE. CHF, congestive heart failure; ICU, intensive-care unit; IQR, interquartile range (25th percentile, 75th percentile); MI, myocardial infarction; MOD, Multiple Organ Dysfunction; SOFA, Sequential Organ Failure Assessment.

Abbildung 24: Demographische Patientendaten der MEDIC Studie [129]

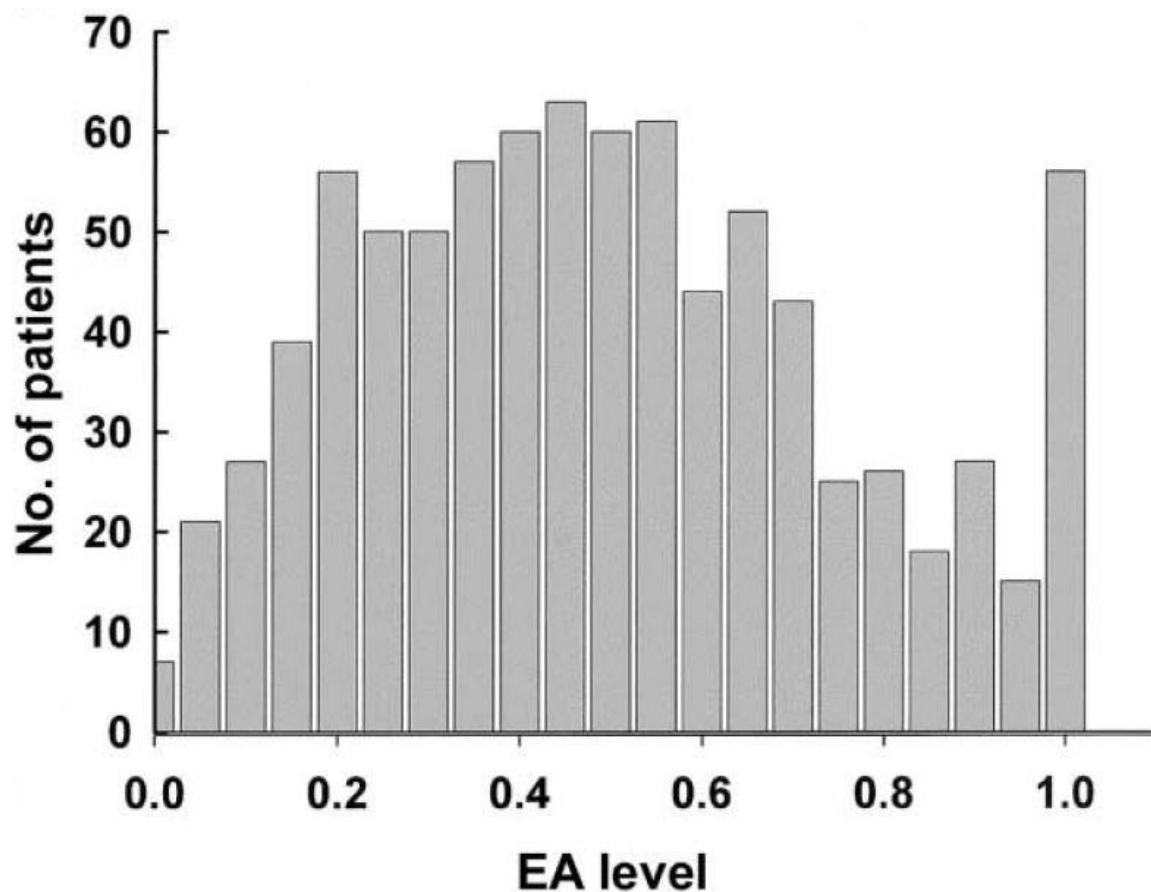


Abbildung 25: Endotoxinaktivität der Patienten der MEDIC Studie am Aufnahmetag auf die ICU [129]

EA level	Risk of severe sepsis in first 24 h of ICU admission, % (no./total)	OR (95% CI) ^a	<i>P</i>
Low (<0.40)	4.9 (18/367)
Intermediate (0.40–0.60)	9.2 (21/228)	2.0 (1.0–3.8)	<.05
High (>0.60)	13.4 (35/262)	3.0 (1.7–5.1)	<.001

NOTE. CI, confidence interval; ICU, intensive-care unit; OR, odds ratio.

^a Mantel-Haenszel $\chi^2 = 13.962$, $P = .0002$.

Abbildung 26: Höhe der Endotoxinaktivität mit entsprechendem Risikoprofil eine schwerer Sepsis zu entwickeln, MEDIC Studie, [129].

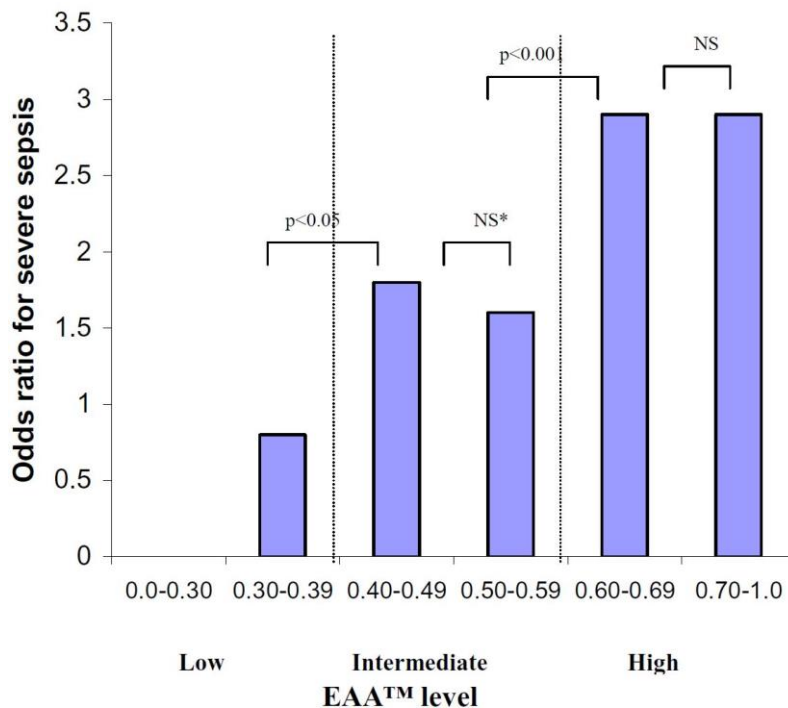


Abbildung 27: Quotenverhältnis (Odds ratio) für die Entwicklung einer schweren Sepsis in Abhängigkeit der Höhe der Endotoxinaktivität; NS = nicht signifikant, MEDIC Studie, [129]

Anhand der Datenlage der MEDIC Studie ist zu erkennen, dass im Vergleich zur Gruppe mit der niedrigen Endotoxinaktivität (EAA™-Units <0,40), die Gruppe der mittleren Aktivität (EAA™-Units 0,40 – 0,59) ein zweifach erhöhtes Risiko für die Entwicklung einer schweren Sepsis aufwies (p-Wert < 0,05). Wenn man diesen Vergleich der Quotenverhältnisse auf die Gruppen mit niedriger und hoher Aktivität (EAA™-Units > 0,60) überträgt, ist sogar zu erkennen, dass die Wahrscheinlichkeit für die letztere Gruppe, eine schwere Sepsis zu entwickeln dreifach höher ist (p-Wert < 0,001) [129].

5.4 Erhebung der Daten mittels Verfahren zur Risikostratifizierung von kritisch kranken Patienten

5.4.1 Acute Physiology and Chronic Health Evaluation Score II (APACHE II)

Acute Physiology and Chronic Health Evaluation Score II (APACHE II), welcher in Deutschland auch nur als APACHE Score bezeichnet wird, ist ein Klassifikationssystem um die Überlebenswahrscheinlichkeit von kritisch kranken Patienten auf der Intensivstation vorherzusagen. Es wurde bereits 1978 vom William A. Knaus im George Washington University Hospital entwickelt und wurde erstmals 1981 im klinischen Alltag eingesetzt. Da der „Ur APACHE Score“ mit insgesamt 34 zu erfassenden Parametern praxisuntauglich war, wurde er von seinem Erfinder modifiziert und 1985 als APACHE Score II veröffentlicht. Dabei wurde die Datenmenge von 34 auf 12 zu erfassende Parameter, zuzüglich der Punkte für Anamnese und das Alter der Patienten reduziert [130, 131]. Dieses Vorgehen vereinfachte das Scoring System deutlich, was zur verbesserten Praxis-tauglichkeit und somit zum breiten Einsatz des Verfahrens führte. Die Reduktion der Messparameter von 34 auf 12 hatte keinen Einfluss auf die statistische Aussagekraft, was in mehreren Studien belegt wurde [130, 132].

APACHE II Score basiert zur Ermittlung der Gesamtpunktzahl auf drei Teilbereichen:

1. Bewertung von klinischen Parametern, wie z.B. hämodynamische und respiratorische Messgrößen, Laborwerte, Temperatur, Urinausscheidung, neurologischer Status.
2. Bewertung des Patientenalters
3. Bewertung der Anamnese

5.4.1.1 Physiologische Parameter

Im ersten Teil des APACHE II Scores werden insgesamt 12 physiologische Parameter, ihrer Abweichung von der Norm entsprechend, mit 0 bis 4 Punkten bewertet. Dabei wird dem Normwert die Zahl 0 zugeordnet, während der Wert mit der höchsten Abweichung von der Norm mit 4 Punkten bewertet wird.

Erhobene Werte	Punkte	Abweichung nach oben				0	Abweichung nach unten			
		+4	+3	+2	+1		+1	+2	+3	+4
Temp. rektal °C		≥ 41°	39 - 40,9°		38,5 - 38,9	36 - 38,4°	34 - 35,9°	32 - 33,9°	30 - 31,9°	≤ 29,9°
Art. Mitteldruck mmHg		≥ 160	130 - 159	110 - 129		70 - 109		50 - 69		≤ 49
Herzfrequenz /min		≥ 180	140 - 179	110 - 139		70 - 109		55 - 69	40 - 54	≤ 39
Atemfrequenz ¹⁾ /min		≥ 50	35 - 49		25 - 34	12 - 24	10 - 11	6 - 9		≤ 5
Oxygenierung ²⁾		≥ 500	350 - 499	200 - 349		< 200 > 70	61 - 70		55 - 60	< 55
pH		≥ 7,7	7,6 - 7,69		7,5 - 7,59	7,33 - 7,49		7,25 - 7,32	7,15 - 7,24	< 7,15
Na+		≥ 180	160 - 179	155 - 159	150 - 154	130 - 149		120 - 129	111 - 119	≤ 110
K+		≥ 7	6,6 - 6,69		5,5 - 5,59	3,5 - 5,4	3,0 - 3,4	2,5 - 2,9		≤ 2,5
Kreatinin ³⁾ mg/dl		≥ 3,5	2,0 - 3,4	1,5 - 1,9		0,6 - 1,4		< 0,6		
Hämatokrit %		≥ 60		50 - 59,9	46 - 49,9	30 - 45,9		20 - 29,9		< 20
Leukozyten (x1000)		≥ 40		20 - 39,9	15 - 19,9	3 - 14,9		1 - 2,9		< 1
Glasgow Coma Scale (GCS)		Punkte = 15 - aktueller GCS								

Abbildung 28: APACHE II Schweregradklassifikationssystem, modifiziert nach W.A. Knaus [130]

Die Folgende Aufstellung am Beispiel „Herzfrequenz“ dient zur besseren Erläuterung:

Norm									
Punkte	+4	+3	+2	+1	0	+1	+2	+3	+4
Herzfrequenz in bpm	≥180	140-179	110-139		70-109		55-69	40-54	≤39
Tachykardie					Bradykardie				

5.4.1.2 Bewertung des Patientenalters

Je nach Alter des Patienten werden ihm Punkte zugeordnet.

Alter	Gewichtsfaktor
≤ 44	0
45 – 54	2
55 – 64	3
65 – 74	5
≥ 75	6

5.4.1.3 Bewertung der Anamnese

Außerdem werden die Patienten nach ihrem Gesundheitsstatus sowie nach der Art des am Patienten durchgeführten operativen Eingriffes bewertet.

Operativer Status	Gesundheitsstatus	Punkte
Nicht operiert	In der Vorgeschichte finden sich Organinsuffizienz <i>oder</i> Immunschwäche ¹⁾	+5
	Immunkompetent <i>und</i> ohne schwere Organinsuffizienz in der Vorgeschichte	+0
Postoperativer Patient nach Notfall-OP	In der Vorgeschichte finden sich Organinsuffizienz <i>oder</i> Immunschwäche	+5
	Immunkompetent <i>und</i> ohne schwere Organinsuffizienz in der Vorgeschichte	+0
Postoperativer Patient nach Wahleingriff	In der Vorgeschichte finden sich Organinsuffizienz <i>oder</i> Immunschwäche ¹⁾	+2
	Immunkompetent <i>und</i> ohne schwere Organinsuffizienz in der Vorgeschichte	+0

Abbildung 29: Chronic Health Score, nach W.A. Knaus [130]

5.4.1.4 Auswertung des Scores

Im APACHE II Score kann ein Patient minimal 0, maximal 71 Punkte erreichen. Die Gesamtpunktzahl ergibt sich aus der Summe des ersten, zweiten und dritten Teiles. Somit ist eine Prognose der individuellen Sterbewahrscheinlichkeit mittels APACHE II Score ermittelbar.

Erreichte Punktzahl	0 - 4	5 - 9	10 - 14	15 - 19	20 - 24	25 - 29	30 - 34	> 34
Todesrate	≈ 4 %	≈ 8 %	≈ 15 %	≈ 25 %	≈ 40 %	≈ 55 %	≈ 75 %	≈ 85 %

Abbildung 30: Sterbewahrscheinlichkeit, nach W.A. Knaus [130]

6 Ergebnisse

6.1 Allgemeines

6.1.1 Demographische Daten der Patienten

Insgesamt sollten innerhalb von 18 Monaten 30 Patienten in die Studie eingeschlossen werden, wobei wir im Klinikum Augsburg 30 kritisch kranke Patienten, die auf unserer anästhesiologischen Intensivstation behandelt wurden, für die EAA-Studie rekrutierten.

Alle Patienten wurden in einem Zeitraum von ca. 18 Monaten (07/2008 – 12/2009), nach Erfüllen der Einschlusskriterien und fehlender Ausschlusskriterien in die Studie eingeschleust. Am Aufnahmetag erfolgte neben der Endotoxinbestimmung, die Erfassung aller für die Studie relevanten Daten. Die Mehrzahl der Patienten kam über unsere Notaufnahme mit den Symptomen eines akuten Abdomens. Nur wenige stellten postoperative Komplikationen dar.

Pat.	Alter	Diagnose	APACHE II	MPI	NA	elektiv	KH	Int.	30 d L.	60 d L.
1	62	Peritonitis im rechten Ober- und Unterbauch	10	19	ja	nein	20	2	0	0
2	79	Peritonitis nach Sigmaperforation	11	26	ja	nein	13	3	0	0
3	73	Peritonitis bei perforiertem Colon	17	37	ja	nein	3	3	1	1
4	71	Peritonitis bei Anastomoseninsuffizienz nach Sigmaresektion	23	25	ja	nein	41	15	0	0
5	71	Kotige 4 Quadrantenperitonitis bei perforierter Sigmadivertikulitis	19	32	ja	nein	82	6	0	0
6	84	Akutes Abdomen, intraoperativ unauffälliger Befund	24	17	ja	nein	15	2	0	0
7	69	Peritonitis bei Kolon ascendens Perforation	10	11	ja	nein	9	0	0	0
8	68	Anastomoseninsuffizienz bei Z. n. subt. Colectomie	16	36	ja	nein	18	4	1	1
9	83	Peritonitis nach Sigmaperforation	19	43	ja	nein	21	7	0	0
10	60	Anastomoseninsuffizienz (Ösophagojejunostomie) nach Ösophagektomie mit Mediastinitis u. Peritonitis	25	29	nein	ja	41	5	0	1
11	70	Insuffizienz der Ileosigmoidostomie mit kotiger 4 Quadrantenperitonitis	14	31	nein	ja	16	4	1	1
12	63	Anastomoseninsuffizienz mit kotiger 4Q Peritonitis nach erweiterter Hemicolectomie links	11	31	nein	ja	35	16	0	0
13	65	Riesiger Intraabdomineller Abszess (2l), vermutlich von einer PEG Fistel ausgehend	20	25	ja	nein	14	2	0	0

14	71	Dünndarmperforation bei Z.n. offener CHE (nach Umstieg von Lap.)	14	33	ja	nein	75	6	0	0
15	84	Cökumperforation, a.e. ischämisch	14	32	ja	nein	61	18	0	0
16	43	Iatrogene Sigmaperforation bei Koloskopie mit 4-Q-Peritonitis	12	24	ja	ja	13	3	0	0
17	66	Komplette Anastomoseninsuffizienz mit 4-Q-Peritonitis	21	44	ja	nein	42	43	0	0
18	89	4-Q-Peritonitis bei perforierter Sigmadivertikulitis und gangränöser Appendicitis	19	38	ja	nein	8	8	1	1
19	84	Kotige 4 Quadrantenperitonitis bei Sigmaperforation	21	39	ja	nein	6	2	1	1
20	72	Perforiertes Duodenalulcus mit 4 Quadrantenperitonitis, V.a. stenosierendes Sigma Ca	20	38	ja	nein	66	55	0	0
21	81	Ischämische Sigmaperforation, 4 Quadrantenperitonitis, nach Diclofenac Einnahme	14	26	ja	nein	14	3	0	0
22	73	Sekundäre Querkolonperforation mit 4 Q-Peritonitis nach stumpfem Bauchtrauma	12	21	ja	nein	21	3	0	0
23	79	Kotige 4 Quadranten Peritonitis bei Cökumperforation bei Sigma Tumor	24	38	ja	nein	2	2	1	1
24	89	Sepsis bei V.a. Nierenabszess, DD: eingeschmolzener Nierentumor	19	25	ja	nein	4	2	1	1
25	48	4 Quadrantenperitonitis nach iatrogener Kolonperforation bei Koloskopie	9	22	ja	nein	10	1	0	0
26	68	Anastomoseninsuffizienz mit lokaler Peritonitis bei Z.n. Sigmaresektion	14	21	ja	nein	37	17	0	0
27	70	Perforierte Appendicitis mit lokale Peritonitis, CUP Syndrom mit Leberfiliae	12	15	ja	nein	52	2	0	1
28	87	Gangrän und Perforation des Cökums bei Inkarzeration in eine Narbenhernie	20	24	ja	nein	11	11	1	1
29	69	Colon descendens Perforation (nach Darmirrigation) mit fibrinös eitriger, lokal kotiger 4 Quadranten Peritonitis	15	27	ja	nein	26	6	0	0
30	68	Perforierte Sigmadivertikulitis mit kotiger 4 Quadranten Peritonitis	20	39	ja	nein	35	35	0	0

Abbildung 31: Patientenübersicht, Scores und Kennzahlen (APACHE II Score= Acute Physiology and Chronic Health Evaluation Score II; NA = Notfallaufnahme; elektiv = elektiver Eingriff mit postoperativer Komplikation; KH = Dauer des Krankenhausaufenthalts in Tagen; Int = Dauer der Intensivtherapie in Tagen; 30 d L. = 30 Tage Letalität; 60 d L. = 60 Tage Letalität)

Zur Erfassung des Endotoxinwertes wurde den Patienten täglich 20 ml EDTA-Blut abgenommen.

Alle klinischen-, physiologischen- und Laborparameter wurden im Rahmen der Intensivüberwachung erfasst und für die Studie übernommen.

Von den 30 Patienten waren 20 Männer, 10 Frauen. Der jüngste Patient war 43 Jahre alt, der älteste 89 Jahre. Das Durchschnittsalter lag bei 73 Jahren. Die weiblichen Patienten waren im Durchschnitt mit 80 Jahren älter als die männlichen Patienten mit durchschnittlich 69 Jahren.

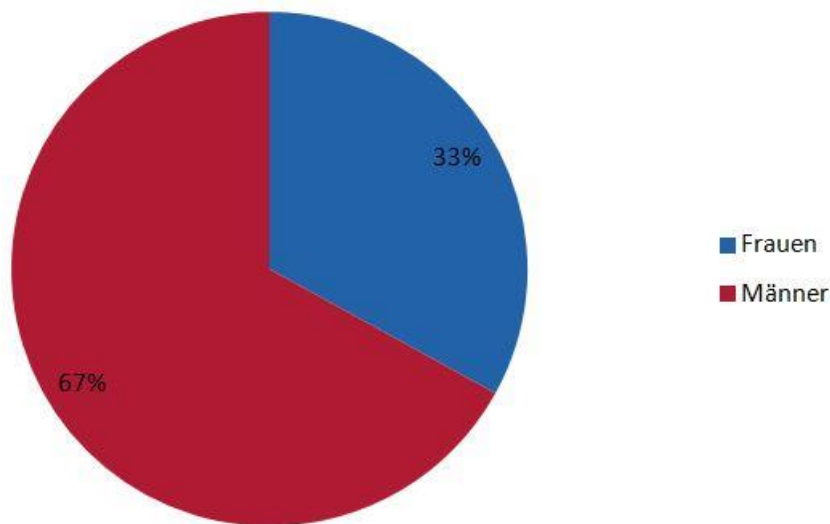


Abbildung 32: Anteil Männer und Frauen

Der kürzeste Aufenthalt auf der Intensivstation betrug einen Tag, die längste Behandlung musste 55 Tage fortgeführt werden. Durchschnittlich wurden die Patienten 21 Tage intensivmedizinisch behandelt.

Von den 30 behandelten Patienten verstarben 10, was einer Gesamtleitilität von 33% entspricht. Die restlichen 20 Patienten konnten auf die Normalstationen verlegt werden und verließen lebend das Krankenhaus.

17 (57%) von 30 Patienten zeigten im EAA™ eine hohe Endotoxinaktivität; 8 (27%) Patienten hatten einen mittleren Wert, wobei 5 (17%) niedrigere Werte aufwiesen.

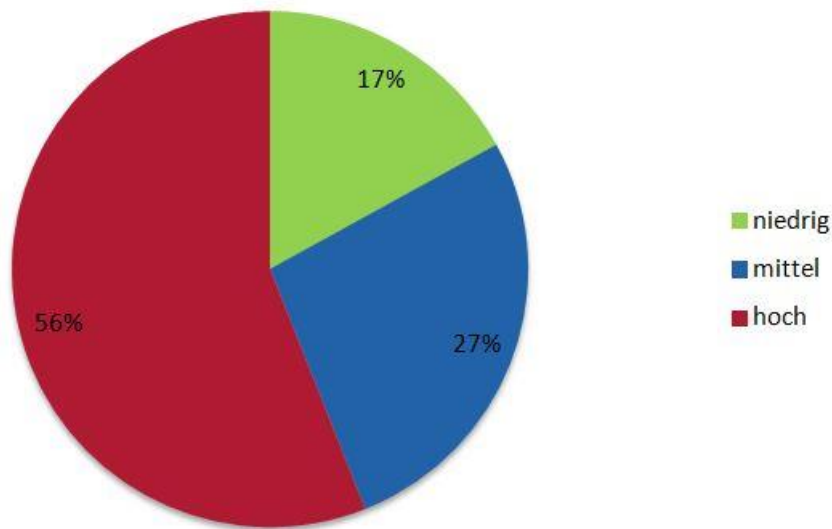


Abbildung 33: Endotoxinaktivität

Die Letalität war sowohl in der Gruppe mit hohen als auch in der mit mittleren Endotoxinwerten mit 7 (41%) respektive 3 Todesfällen (37,5%) relativ hoch und entsprach den in der Literatur beschriebenen Letalitätsraten von kritisch Kranken mit schwerer Sepsis bzw. septischem Schock [18]. Dagegen gab es keine Todesfälle in der Gruppe mit niedriger Endotoxinaktivität.

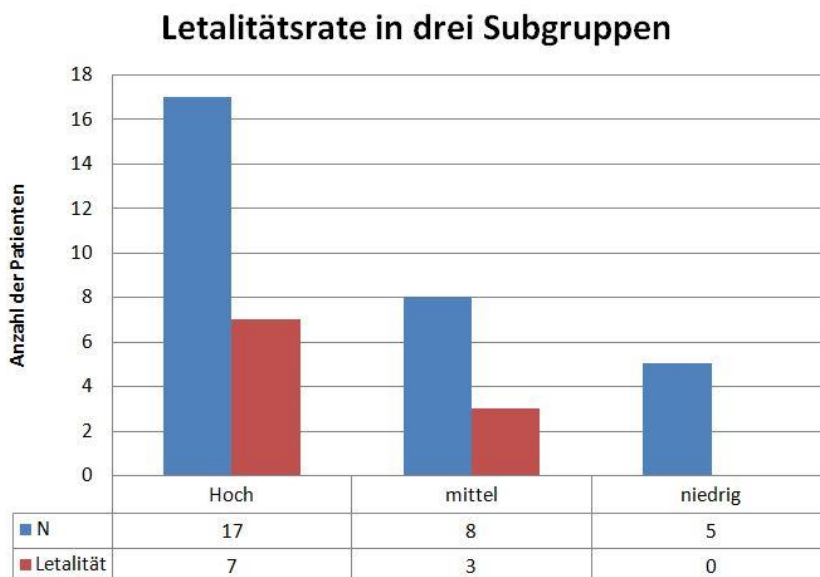


Abbildung 34: Letalitätsrate in drei Subgruppen

6.2 Analyse der Daten

6.2.1 Receiver Operating Characteristic (ROC) und dessen Interpretation

Zur Objektivierung der Voraussagekraft der einzelnen Parameter bezüglich der Letalität bedienen wir uns der Receiver Operating Characteristic, einer Methode der sog. Signalentdeckungstheorie, die mit Hilfe einer Grenzwertoptimierungskurve visuell die Abhängigkeit der Effizienz mit der Fehlerrate darstellt und somit zum besseren Verständnis des strategischen Vorgehens in der Analyse der erhobenen Daten beiträgt.

Die Signalentdeckungstheorie analysiert die Detektion von schwer zu entdeckenden Signalen und liefert einen Maßstab für die Qualität des mit dieser Arbeit beauftragten Systems (Mensch oder Maschine). Sie wurde von John A. Swets und David M. Green entwickelt und erstmals 1966 in ihrem Buch *Signal Detection Theory and Psychophysics* vorgestellt [133].

Man kann mit der ROC-Kurve visuell den Zusammenhang zwischen der Effizienz (richtig positiv) und der Fehlerrate (falsch negativ) darstellen. Hierzu wird in einem Diagramm die Sensitivität (Richtig-Positive-Rate) als Ordinate und Falsch-Positive-Rate als Abszisse aufgetragen. Aus Diesen Daten entsteht eine typische gekrümmte Kurve, wobei die berechnete Fläche darunter (area under the curve; AUC) zur Interpretation herangezogen wird. Diese kann Werte zwischen 0 und 1 einnehmen, wobei wir den Wert 0,5 mit der Nullhypothese gleichgesetzt haben.

Man kann auch formulieren, dass Werte nahe der Diagonalen auf eine gleich hohe Rate sowohl an richtig als auch an falsch positiven Werten hindeuten. Somit spricht eine ROC Kurve nahe der Diagonalen für einen Zufallsprozess.

Dagegen würde eine ideale ROC Kurve zunächst senkrecht ansteigen und somit eine nahezu 100% Trefferquote anzeigen, wobei die Fehlerquote noch bei 0% läge.

Eine deutlich unterhalb der Diagonalen bleibende ROC Kurve hat keine Aussagekraft. Sie zeigt vielmehr eine Fehlinterpretation der gemessenen Werte an.

Im Folgenden werden alle Parameter bezüglich ihrer Aussagekraft über die Letalität mittels Receiver Operating Characteristic untersucht. Die errechneten ROC-Kurven werden nachfolgend aufgelistet und interpretiert:

6.2.1.1 ROC Kurve für das Cholesterin

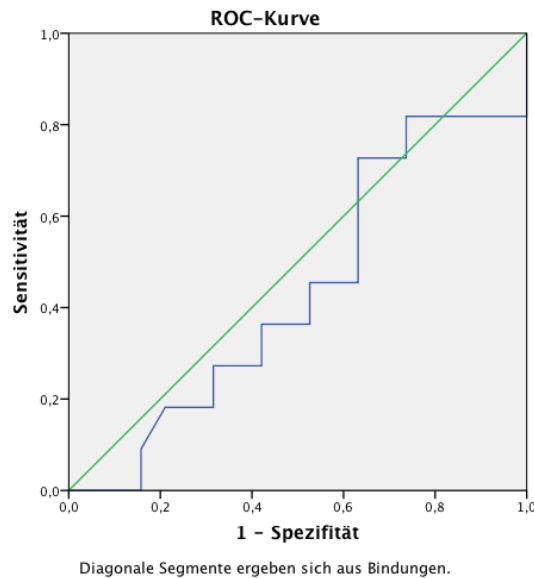


Abbildung 35: ROC Kurve für das Cholesterin

Die für das Cholesterin errechnete ROC Kurve befindet sich eindeutig unter der Diagonalen, womit konsekutiv auch die darunter befindliche Fläche einen Wert von kleiner als 0,5 (0,433) aufweist. Per definitionem zeigt diese Konstellation einen Zufallsbefund an.

Fläche unter der Kurve

Variable(n) für Testergebnis: **Cholesterin**

Fläche	Standardfehler ^a	Asymptotische Signifikanz ^b	Asymptotisches 95% Konfidenzintervall	
			Untergrenze	Obergrenze
,433	,109	,547	,218	,648

a. Unter der nichtparametrischen Annahme

b. Nullhypothese: Wahrheitsfläche = 0.5

6.2.1.2 ROC Kurve für das Neopterin

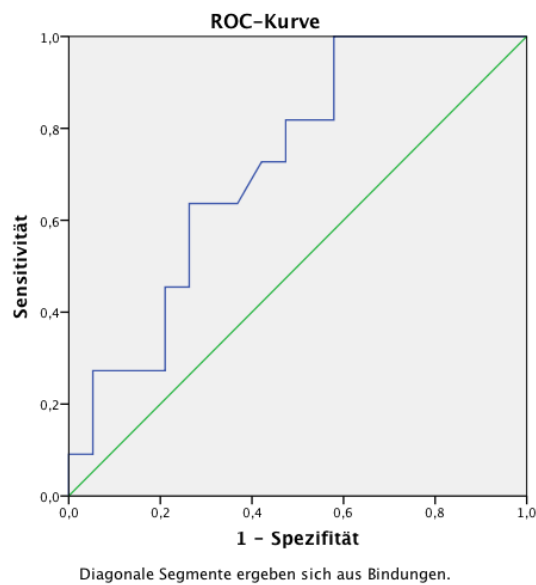


Abbildung 36: ROC Kurve für das Neopterin

Die für das Neopterin errechnete ROC Kurve befindet sich eindeutig über der Diagonalen, womit konsekutiv auch die darüber befindliche Fläche einen Wert von größer als 0,5 (0,720) aufweist. Somit hat das Neopterin eine hohe Voraussagekraft bezüglich der Letalität im Rahmen einer Sepsis.

Fläche unter der Kurve

Variable(n) für Testergebnis: **Neopterin**

Fläche	Standardfehler ^a	Asymptotische Signifikanz ^b	Asymptotisches 95% Konfidenzintervall	
			Untergrenze	Obergrenze
,720	,093	,048	,538	,902

- a. Unter der nichtparametrischen Annahme
- b. Nullhypothese: Wahrheitsfläche = 0.5

6.2.1.3 ROC Kurve für das Procalcitonin (PCT)

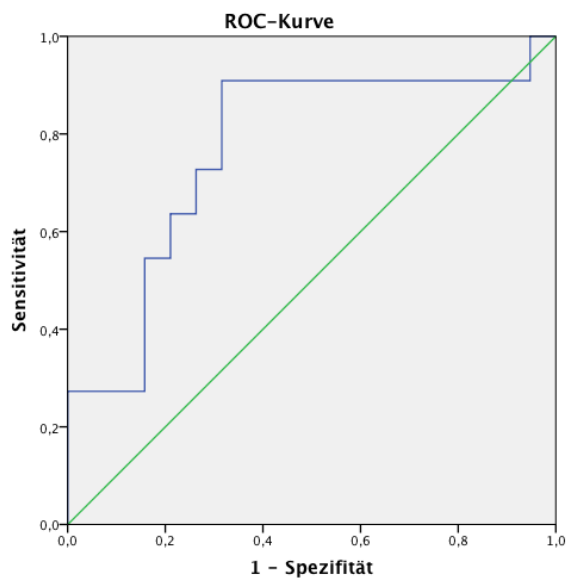


Abbildung 37: ROC Kurve für das Procalcitonin

Die für das Procalcitonin errechnete ROC Kurve befindet sich eindeutig über der Diagonalen, womit konsekutiv auch die darüber befindliche Fläche einen Wert von größer als 0,5 (0,770) aufweist. Somit hat das Procalcitonin eine hohe Voraussagekraft bezüglich der Letalität im Rahmen einer Sepsis.

Fläche unter der Kurve

Variable(n) für Testergebnis: **PCT**

Fläche	Standardfehler ^a	Asymptotische Signifikanz ^b	Asymptotisches 95% Konfidenzintervall	
			Untergrenze	Obergrenze
,770	,096	,015	,583	,958

- c. Unter der nichtparametrischen Annahme
- d. Nullhypothese: Wahrheitsfläche = 0.5

6.2.1.4 ROC Kurve für das Brain Natriuretic Peptide (BNP)

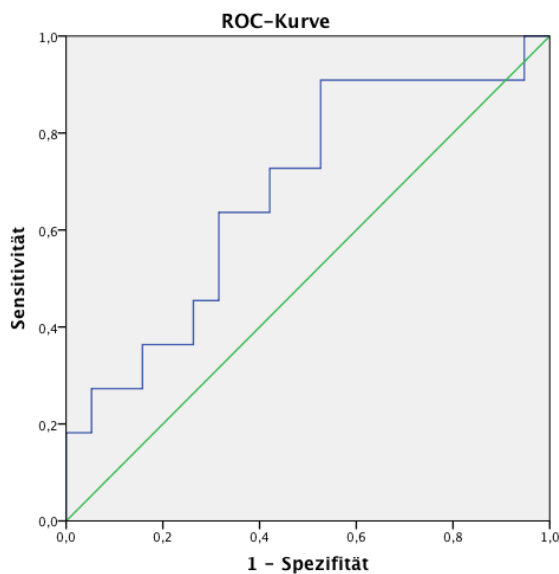


Abbildung 38: ROC Kurve für das BNP

Die für das BNP errechnete ROC Kurve befindet sich eindeutig über der Diagonalen, womit konsekutiv auch die darüber befindliche Fläche einen Wert von größer als 0,5 (0,679) aufweist. Somit hat das BNP eine hohe Voraussagekraft bezüglich der Letalität im Rahmen einer Sepsis.

Fläche unter der Kurve

Variable(n) für Testergebnis: **BNP**

Fläche	Standardfehler ^a	Asymptotische Signifikanz ^b	Asymptotisches 95% Konfidenzintervall	
			Untergrenze	Obergrenze
,679	,103	,107	,477	,882

e. Unter der nichtparametrischen Annahme

f. Nullhypothese: Wahrheitsfläche = 0.5

6.2.1.5 ROC Kurve für das Interleukin-6 (IL-6)

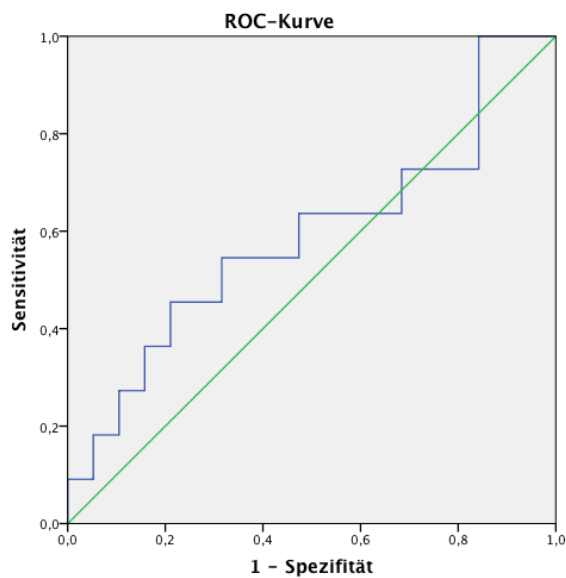


Abbildung 39: ROC Kurve für das IL-6

Die für das IL-6 errechnete ROC Kurve befindet sich knapp über der Diagonalen, womit konsekutiv auch die darüber befindliche Fläche einen Wert von größer als 0,5 (0,589) aufweist. Somit hat das IL-6, wenn auch knapp, einen positiv prädiktiven Wert bezüglich der Letalität im Rahmen einer Sepsis.

Fläche unter der Kurve

Variable(n) für Testergebnis: IL6

Fläche	Standardfehler ^a	Asymptotische Signifikanz ^b	Asymptotisches 95% Konfidenzintervall	
			Untergrenze	Obergrenze
,589	,114	,426	,365	,812

g. Unter der nichtparametrischen Annahme

h. Nullhypothese: Wahrheitsfläche = 0.5

6.2.1.6 ROC Kurve für das High-mobility group protein B1 (HMGB-1)

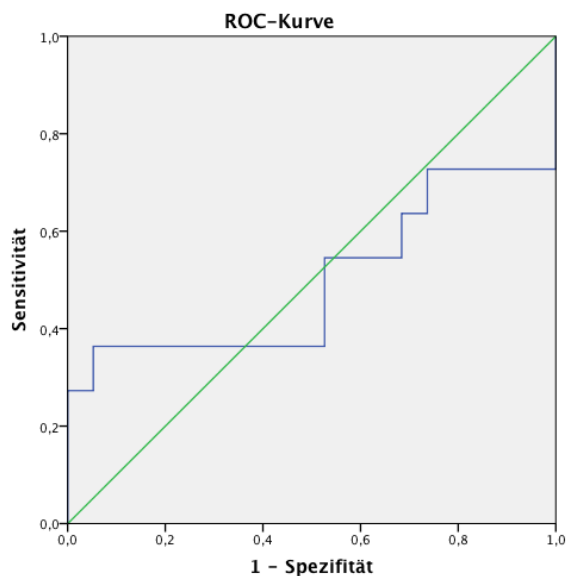


Abbildung 40: ROC Kurve für das HMGB-1

Die für das HMGB-1 errechnete ROC Kurve befindet sich insgesamt unter der Diagonalen, womit konsekutiv auch die darunter befindliche Fläche, wenn auch knapp, einen Wert von kleiner als 0,5 (0,498) aufweist. Somit zeigt diese Konstellation per definitionem einen Zufallsbefund an.

Fläche unter der Kurve

Variable(n) für Testergebnis: HMGB1

Fläche	Standardfehler ^a	Asymptotische Signifikanz ^b	Asymptotisches 95% Konfidenzintervall	
			Untergrenze	Obergrenze
,498	,128	,983	,246	,749

- i. Unter der nichtparametrischen Annahme
- j. Nullhypothese: Wahrheitsfläche = 0.5

6.2.1.7 ROC Kurve für das Lipopolysaccharid-bindendes Protein (LBP)

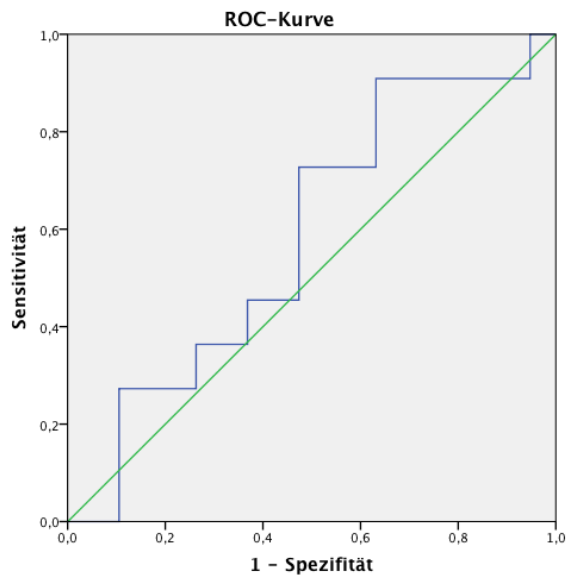


Abbildung 41: ROC Kurve für das LBP

Die für das LBP errechnete ROC Kurve befindet sich insgesamt über der Diagonalen, womit konsekutiv auch die darüber befindliche Fläche einen Wert von größer als 0,5 (0,584) aufweist. Somit hat das LBP per definitionem einen positiv prädiktiven Wert bezüglich der Letalität im Rahmen einer Sepsis.

Fläche unter der Kurve

Variable(n) für Testergebnis: LBP

Fläche	Standardfehler ^a	Asymptotische Signifikanz ^b	Asymptotisches 95% Konfidenzintervall	
			Untergrenze	Obergrenze
,584	,108	,451	,373	,795

k. Unter der nichtparametrischen Annahme

l. Nullhypothese: Wahrheitsfläche = 0.5

6.2.1.8 ROC Kurve für das Laktat

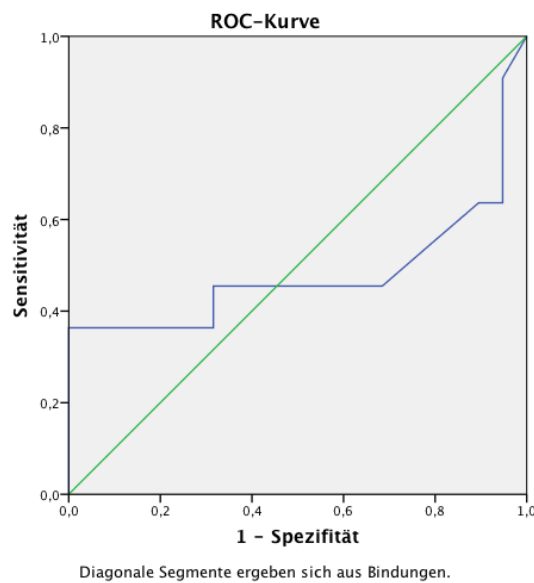


Abbildung 42: ROC Kurve für das Laktat

Die für das Laktat errechnete ROC Kurve befindet sich insgesamt unter der Diagonalen, womit konsekutiv auch die darunter befindliche Fläche einen Wert von kleiner als 0,5 (0,481) aufweist. Somit zeigt diese Konstellation per definitionem einen Zufallsbefund an.

Fläche unter der Kurve

Variable(n) für Testergebnis: Laktat

Fläche	Standardfehler ^a	Asymptotische Signifikanz ^b	Asymptotisches 95% Konfidenzintervall	
			Untergrenze	Obergrenze
,481	,134	,863	,218	,744

Bei der bzw. den Variable(n) für das Testergebnis: Laktat liegt mindestens eine Bindung zwischen der positiven Ist-Zustandsgruppe und der negativen Ist-Zustandsgruppe vor. Die Statistiken sind möglicherweise verzerrt.

- m. Unter der nichtparametrischen Annahme
- n. Nullhypothese: Wahrheitsfläche = 0.5

6.2.1.9 ROC Kurve für das Endotoxin

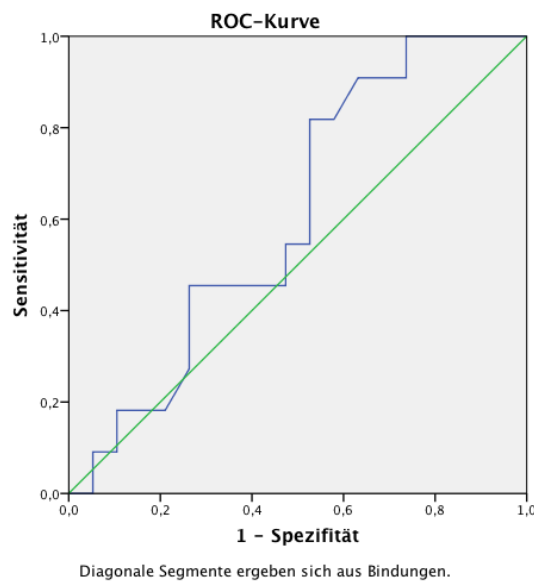


Abbildung 43: ROC Kurve für das Endotoxin

Die für das Endotoxin errechnete ROC Kurve befindet sich eindeutig über der Diagonalen, womit konsekutiv auch die darüber befindliche Fläche einen Wert von größer als 0,5 (0,608) aufweist. Somit kann dem Endotoxin eine hohe Voraussagekraft bezüglich Letalität im Rahmen einer Sepsis attestiert werden.

Fläche unter der Kurve

Variable(n) für Testergebnis: Endotoxin

Fläche	Standardfehler ^a	Asymptotische Signifikanz ^b	Asymptotisches 95% Konfidenzintervall	
			Untergrenze	Obergrenze
,608	,103	,333	,405	,810

Bei der bzw. den Variable(n) für das Testergebnis: Endotoxin2 liegt mindestens eine Bindung zwischen der positiven Ist-Zustandsgruppe und der negativen Ist-Zustandsgruppe vor. Die Statistiken sind möglicherweise verzerrt.

- a. Unter der nichtparametrischen Annahme
- b. Nullhypothese: Wahrheitsfläche = 0.5

6.2.2 Vergleich der Parameter in den Subgruppen; niedrige, mittlere und hohe Endotoxinkonzentration

Zur weiteren Analyse der erhobenen Daten wurden die Patienten entsprechend ihrer Endotoxinkonzentration in drei Subgruppen unterteilt:

- Niedrige Endotoxinkonzentration
- Mittlere Endotoxinkonzentration
- Hohe Endotoxinkonzentration

6.2.2.1 Vergleich der LBP-Konzentration zwischen den 3 Subgruppen

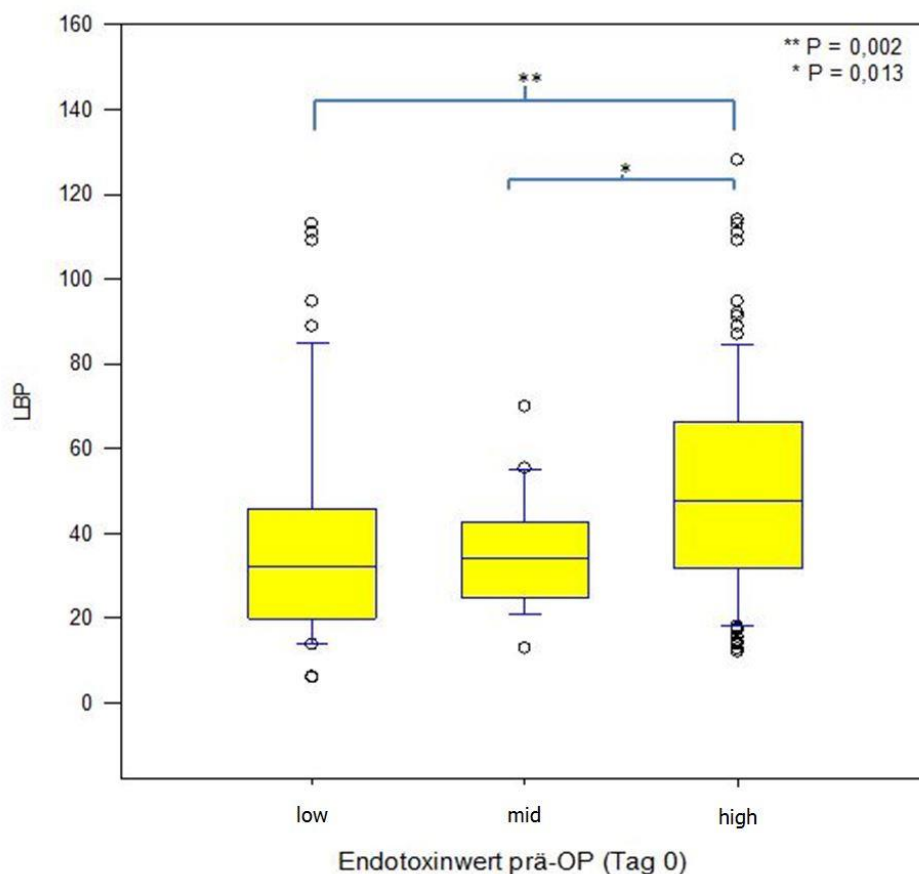


Abbildung 44: Vergleich der LBP-Konzentrationen zwischen den 3 Subgruppen

Dabei konnte ein signifikanter Unterschied (ANOVA; $P=0,002$) bezüglich der Höhe der LBP Konzentrationen zwischen den Patienten mit niedrigen ($<0,6$ RLU) gegenüber den Patienten mit hohen Endotoxinspiegeln ($\geq 0,6$ RLU) gezeigt werden. Ebenso war

eine Signifikanz ($P=0,013$) zwischen der Gruppe mit mittlerer (RLU 0,40 – 0,59) und der mit hoher Endotoxinkonzentrationen ($\geq 0,6$ RLU) zu erkennen.

6.2.2.2 Vergleich der Cholesterin- Konzentration zwischen den 3 Subgruppen

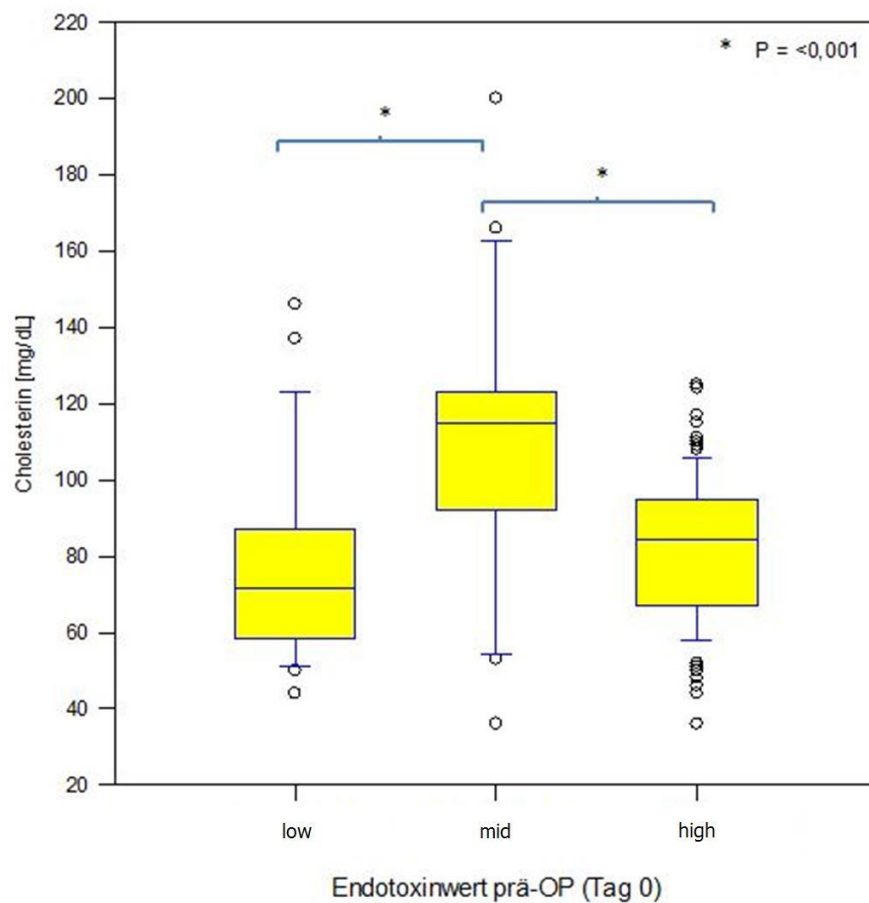


Abbildung 45: Vergleich der Cholesterin Konzentration zwischen den 3 Subgruppen

Hier konnten signifikant höhere Cholesterinwerte ($P= <0,001$) bei Patienten mit mittleren Endotoxinkonzentrationen erhoben werden.

6.2.2.3 Vergleich der Laktat-Konzentration zwischen den 3 Subgruppen

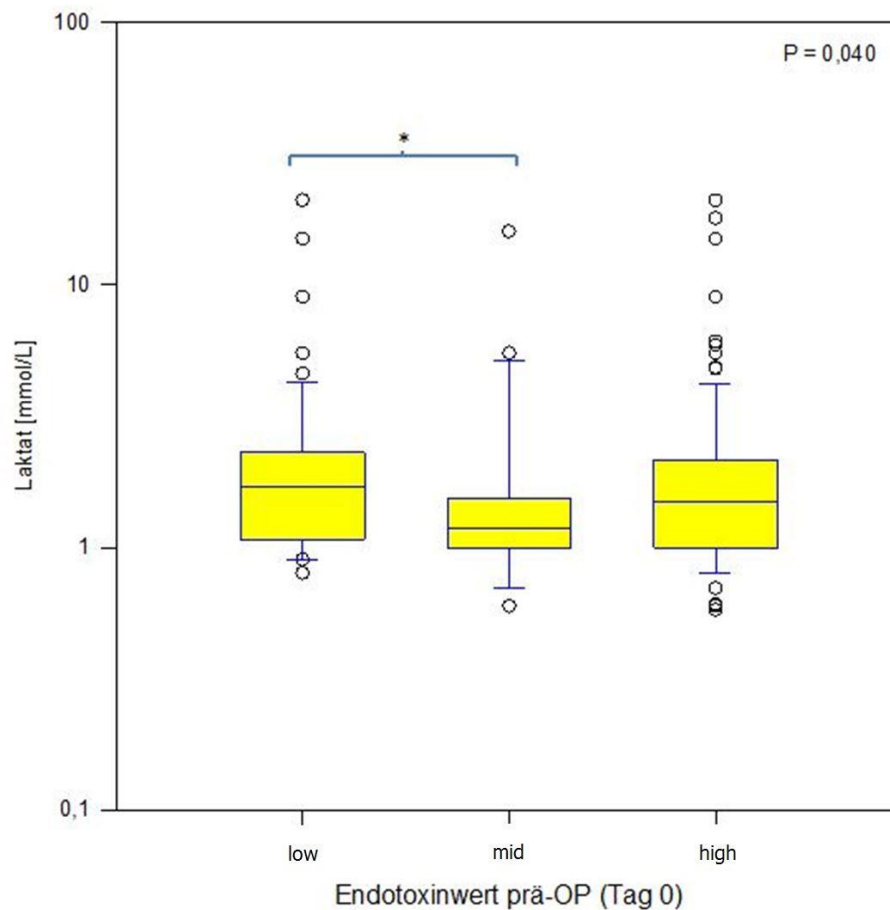


Abbildung 46: Vergleich der Laktat Konzentration zwischen den 3 Subgruppen

Zwischen der Gruppe der Patienten mit niedriger und mittlerer Endotoxinkonzentration fand sich ein signifikanter Unterschied ($P=0,040$) in Bezug auf die Laktat-Konzentration.

6.2.2.4 Vergleich der Neopterin-Konzentration zwischen den 3 Subgruppen

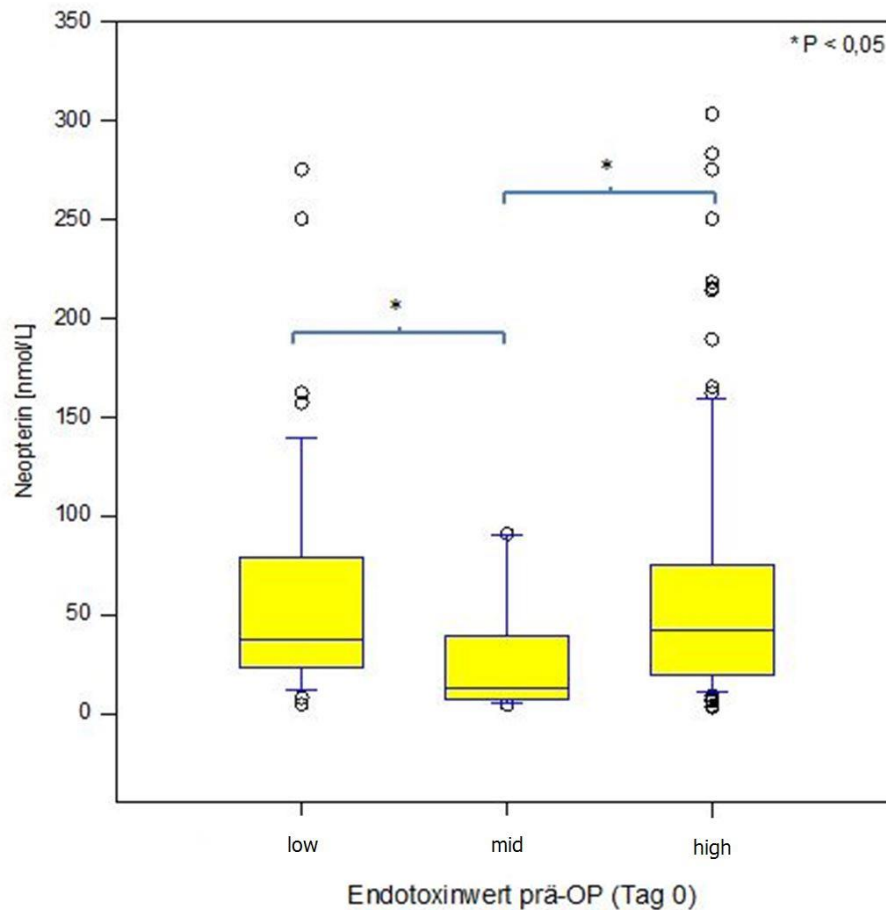


Abbildung 47: Vergleich der Neopterin-Konzentration zwischen den 3 Subgruppen

Bezüglich des Neopterins zeigte sich, dass sowohl die Gruppe der Patienten mit niedriger Endotoxinkonzentration als auch die mit hoher signifikant höhere Werte ($P < 0,05$) im Vergleich zu Patienten mit mittlerer Endotoxinkonzentration aufwiesen.

Untersuchungen der drei Subgruppen bezüglich HMGB-1, IL-6, Bilirubin, Copeptin sowie NT-pro BNP zeigten keine signifikanten Unterschiede.

6.2.3 Korrelation der Entzündungsparameter mit Scores wie MPI und APACHE II Score

6.2.3.1 Korrelation des MPI mit PCT

Wir untersuchten die Übereinstimmung der Höhe der Entzündungsparameter mit dem Wert des Mannheimer Peritonitis Indexes sowie mit der im APACHE II Score erreichter Gesamtpunktzahl. Dabei zeigte sich im Vergleich zu anderen Entzündungsparametern die stärkste Korrelation zwischen initialem MPI und dem PCT Wert (rs: Spearman correlation coefficient : = 0,705; $p < 0,01$; $n = 30$).

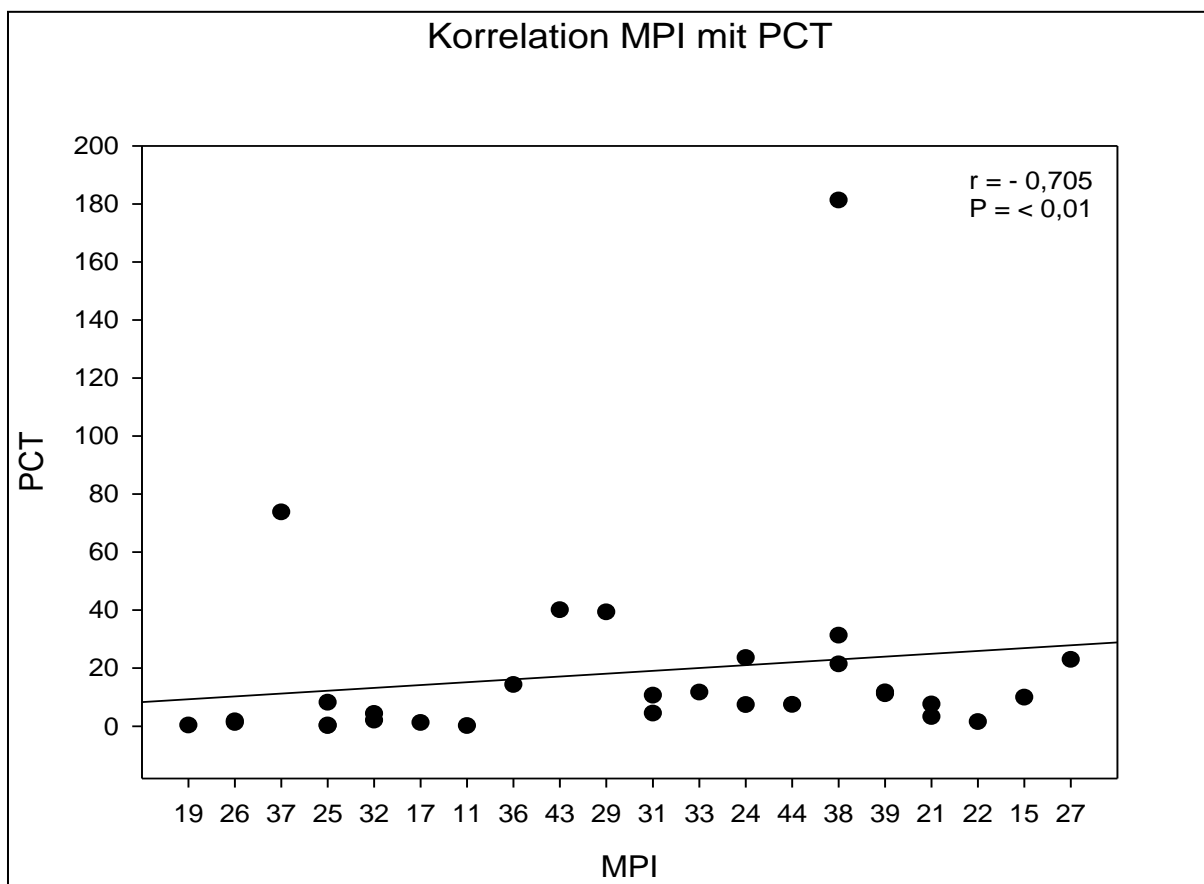


Abbildung 48: Korrelation von MPI mit PCT

6.2.4 Entzündungsparameter und Vergleich der prä- und postoperativen Werte

6.2.4.1 Interleukin 6 (IL-6)

Im Folgenden werden Mittelwerte der IL-6 Konzentrationen (pg/ml) sowohl der überlebenden als auch der verstorbenen Patienten miteinander verglichen (siehe Tab. 1).

Survivor:	<i>prä-OP</i>	<i>1.post-OP Tag</i>	<i>Maximalwert</i>
Anzahl	20,0	20,0	20,0
Mittelwert	3202,4	1132,5	3766,2
SD	6754,38	2300,57	6869,15
Konfidenz	2960,18	1008,25	3010,48
Median	871,6	453,4	1228,5
unteres 95% CI	242,2	124,2	755,7
oberes 95% CI	6162,6	2140,8	6776,6
Maximum	26487	10438	26487
Minimum	22,5	35,8	73,6

Nonsurvivor:	<i>prä-OP</i>	<i>1.post-OP Tag</i>	<i>Maximalwert</i>
Anzahl	10	10	10
Mittelwert	15299,0	7017,7	10686,3
SD	30845,15	16503,55	17065,01
Konfidenz	19117,67	10228,82	10576,82
Median	2160,0	1175,2	2295,0
unteres 95% CI	-3818,7	-3211,1	109,5
oberes 95% CI	34416,7	17246,5	21263,1
Maximum	100000	53460	53460
Minimum	195,3	62,4	215

Tabelle 1: Mittelwerte der IL-6 Konzentration (pg/ml) bei überlebenden und verstorbenen Patienten, jeweils am prä- und 1. postoperativen Tag, sowie Maximalwerte.

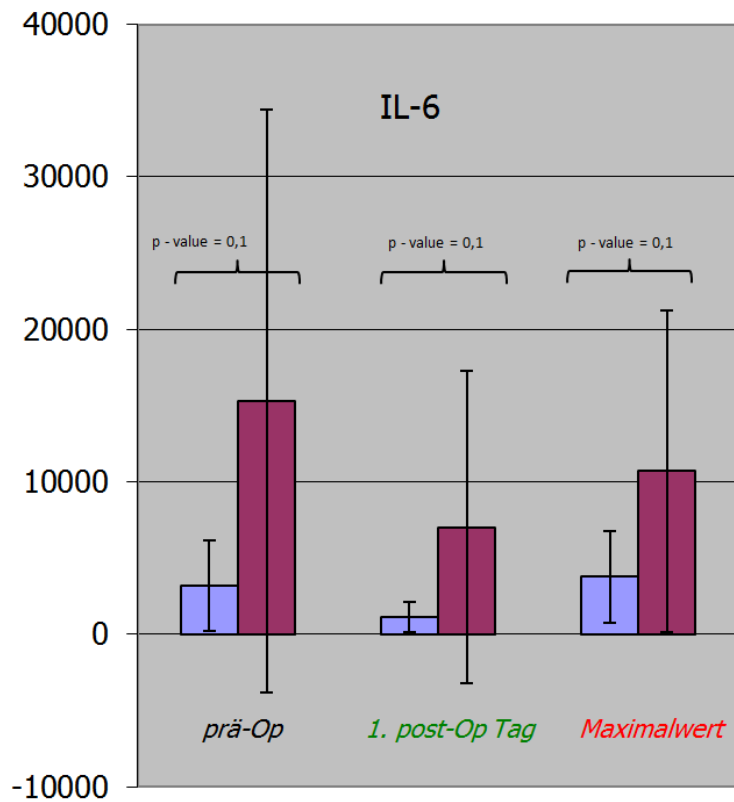


Abbildung 49: Darstellung der IL-6 Konzentration; blau: survivor; rot: nonsurvivor; 1: prä-Op; 2: 1. post-Op Tag; 3: Maximalwerte

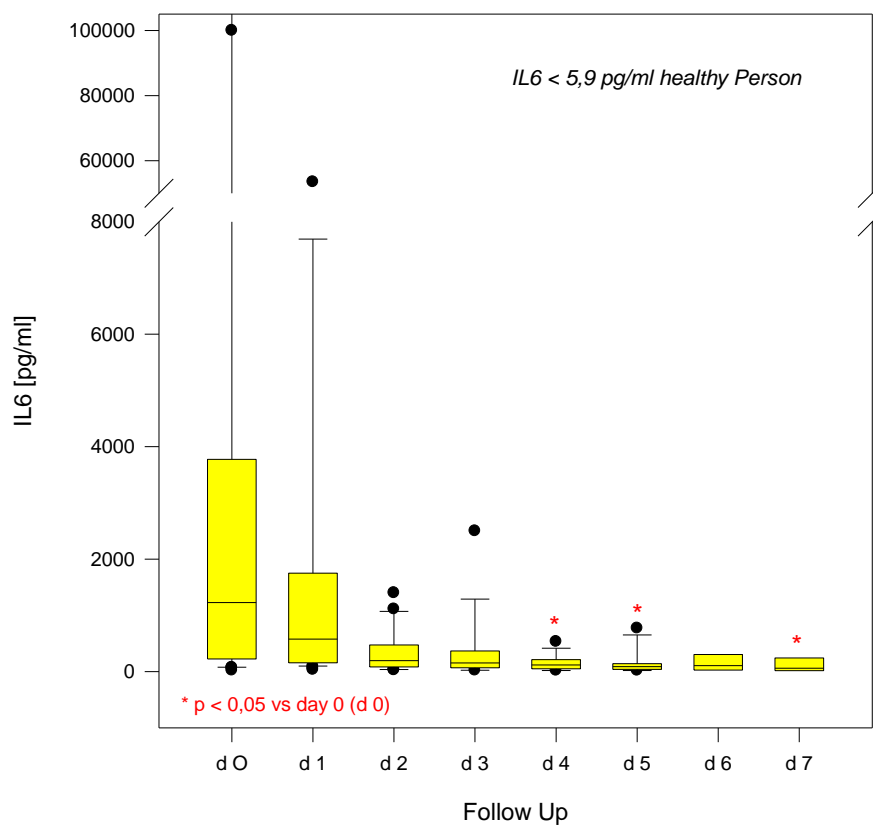


Abbildung 50: IL-6 Konzentration im Gesamtkollektiv über den Beobachtungszeitraum von 8 Tagen

6.2.4.2 PCT

Im Folgenden werden Mittelwerte der PCT Konzentrationen (ng/ml) sowohl der überlebenden als auch der verstorbenen Patienten miteinander verglichen (siehe Tab. 2).

Survivor:	<i>prä-OP</i>	<i>1.post-OP Tag</i>	<i>Maximalwert</i>
Anzahl	20,0	20,0	20,0
Mittelwert	9,2	9,5	12,1
SD	11,41	12,22	13,37
Konfidenz	4,0	5,36	5,86
Median	4,4	5,3	7,5
unteres 95% CI	4,2	4,2	6,2
oberes 95% CI	14,2	14,9	17,9
Maximum	40,08	49,31	49,31
Minimum	0,18	0,3	0,34

Nonsurvivor:	<i>prä-OP</i>	<i>1.post-OP Tag</i>	<i>Maximalwert</i>
Anzahl	10	10	9
Mittelwert	37,0	25,2	23,9
SD	55,00	31,39	23,41
Konfidenz	34,09	19,46	15,29
Median	13,0	13,6	14,3
unteres 95% CI	2,9	5,7	8,6
oberes 95% CI	71,1	44,6	39,2
Maximum	181,29	105,69	73,77
Minimum	0,36	0,34	0,39

Tabelle 2: Mittelwerte der PCT Konzentration (ng/ml) bei überlebenden und verstorbenen Patienten, jeweils am prä- und 1. postoperativen Tag, sowie Maximalwerte.

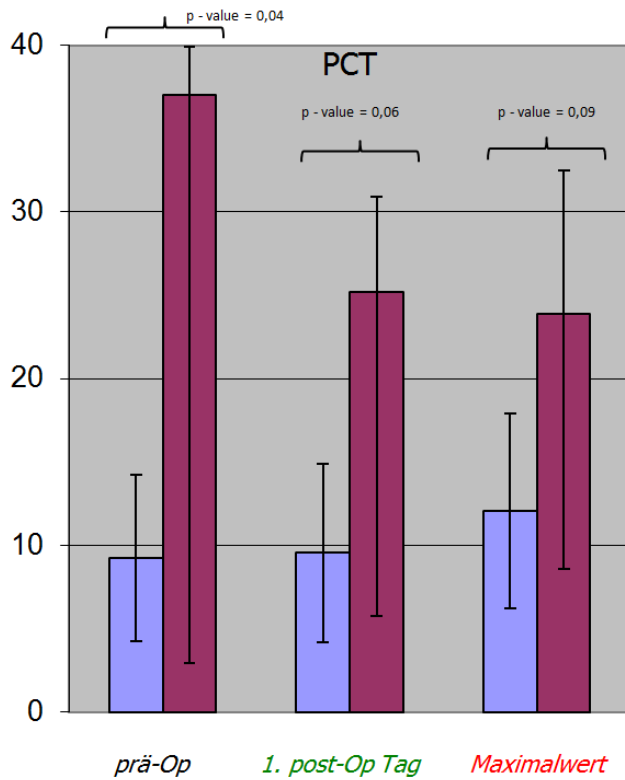


Abbildung 52: Darstellung der Procalcitonin Konzentration; blau: survivor; rot: nonsurvivor; 1: prä-Op; 2: 1. post-op .Tag; 3: Maximalwerte

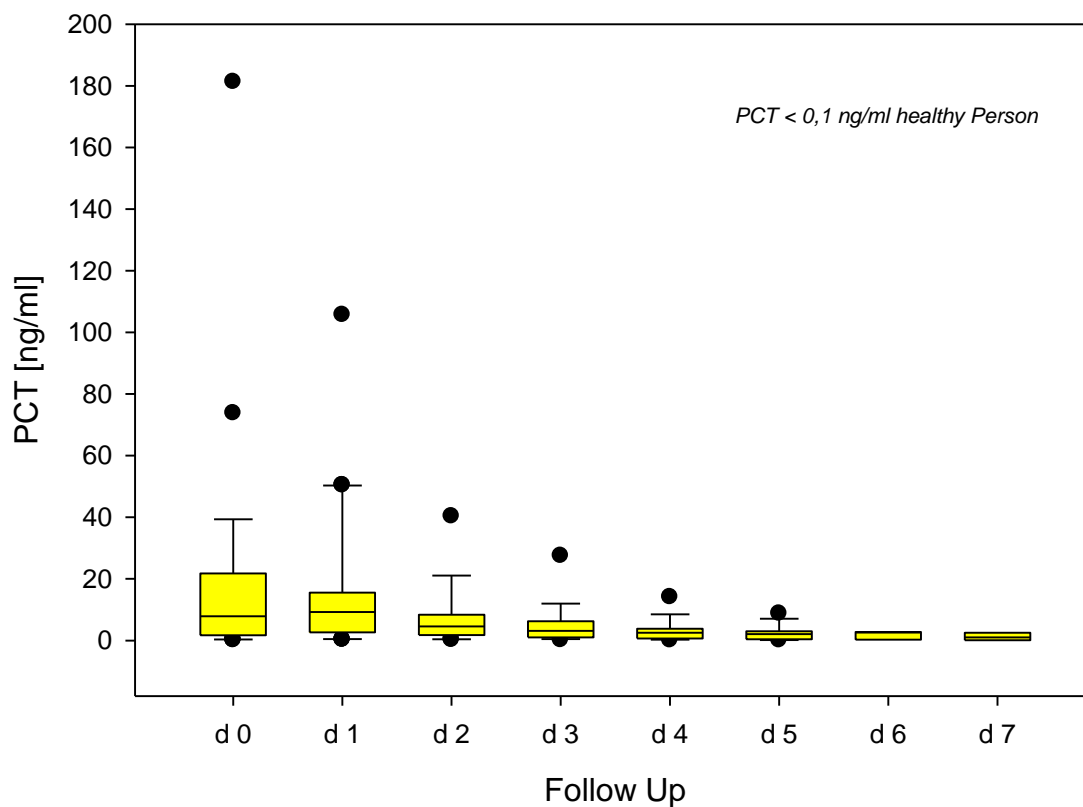


Abbildung 51: PCT Konzentration im Gesamtkollektiv über den Beobachtungszeitraum von 8 Tagen

6.2.4.3 High-Mobility-Group-Protein B1 (HMGB1)

Im Folgenden werden Mittelwerte der HMGB-1 Konzentrationen (ng/ml) sowohl der überlebenden als auch der verstorbenen Patienten miteinander verglichen (siehe Tab. 3).

Survivor:	<i>prä-OP</i>	<i>1.post-OP Tag</i>	<i>Maximalwert</i>
Anzahl	20,0	20,0	20,0
Mittelwert	2,5	1,8	3,3
SD	1,50	1,06	2,33
Konfidenz	0,66	0,47	1,02
Median	2,3	1,6	2,4
unteres 95% CI	1,9	1,3	2,2
oberes 95% CI	3,2	2,3	4,3
Maximum	7,3	5,2	10,5
Minimum	0,77	0,77	1,12

Nonsurvivor:	<i>prä-OP</i>	<i>1.post-OP Tag</i>	<i>Maximalwert</i>
Anzahl	10	10	10
Mittelwert	3,2	26,7	29,8
SD	1,84	57,19	56,88
Konfidenz	1,14	35,45	35,25
Median	2,9	2,6	2,9
unteres 95% CI	2,0	-8,7	-5,5
oberes 95% CI	4,3	62,2	65,0
Maximum	6,5	182,46	182,46
Minimum	1,3	1,1	1,3

Tabelle 3: Mittelwerte der HMGB-1 Konzentration (ng/ml) bei überlebenden und verstorbenen Patienten, jeweils am prä- und 1. postoperativen Tag, sowie Maximalwerte

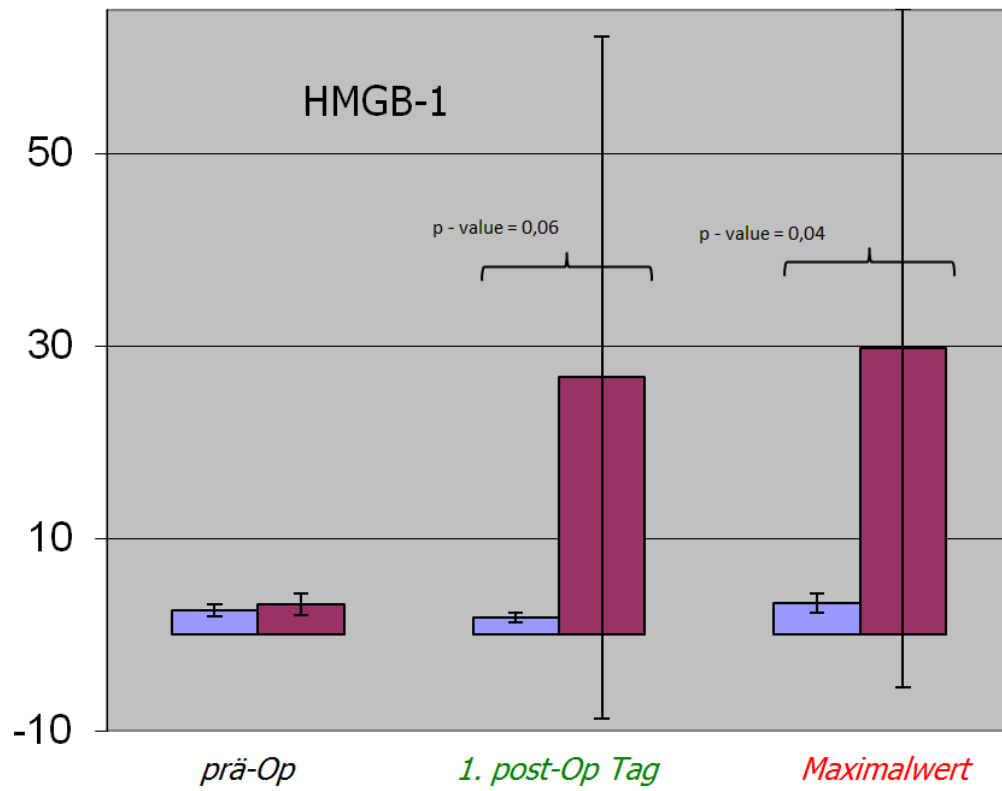


Abbildung 53: Darstellung der HMGB-1 Konzentration; blau: survivor; rot: nonsurvivor; 1: prä-Op; 2: 1. post-op. Tag; 3: Maximalwerte

6.2.4.4 Lipopolysaccharid-bindendes Protein (LBP)

Im Folgenden werden Mittelwerte der LBP Konzentrationen ($\mu\text{g/ml}$) sowohl der überlebenden als auch der verstorbenen Patienten miteinander verglichen (siehe Tab. 4).

Survivor:	<i>prä-OP</i>	<i>1.post-OP Tag</i>	<i>Maximalwert</i>
Anzahl	20,0	20,0	20,0
Mittelwert	36,9	43,9	61,8
SD	18,41	21,03	26,71
Konfidenz	8,069	9,22	11,71
Median	37,3	39,9	52,3
unteres 95% CI	28,8	34,7	50,1
oberes 95% CI	44,9	53,1	73,5
Maximum	74,3	76,5	128
Minimum	6,1	5,9	17,2

Nonsurvivor:	<i>prä-OP</i>	<i>1.post-OP Tag</i>	<i>Maximalwert</i>
Anzahl	10	10	10
Mittelwert	42,4	57,9	69,7
SD	22,71	26,49	24,19
Konfidenz	14,08	16,42	14,99
Median	39,2	52,3	65,9
unteres 95% CI	28,3	41,5	54,7
oberes 95% CI	56,5	74,3	84,7
Maximum	80	92	113
Minimum	12,7	20,9	29,4

Tabelle 4: Mittelwerte der LBP Konzentration ($\mu\text{g/ml}$) bei überlebenden und verstorbenen Patienten, jeweils am prä- und 1. postoperativen Tag, sowie Maximalwerte.

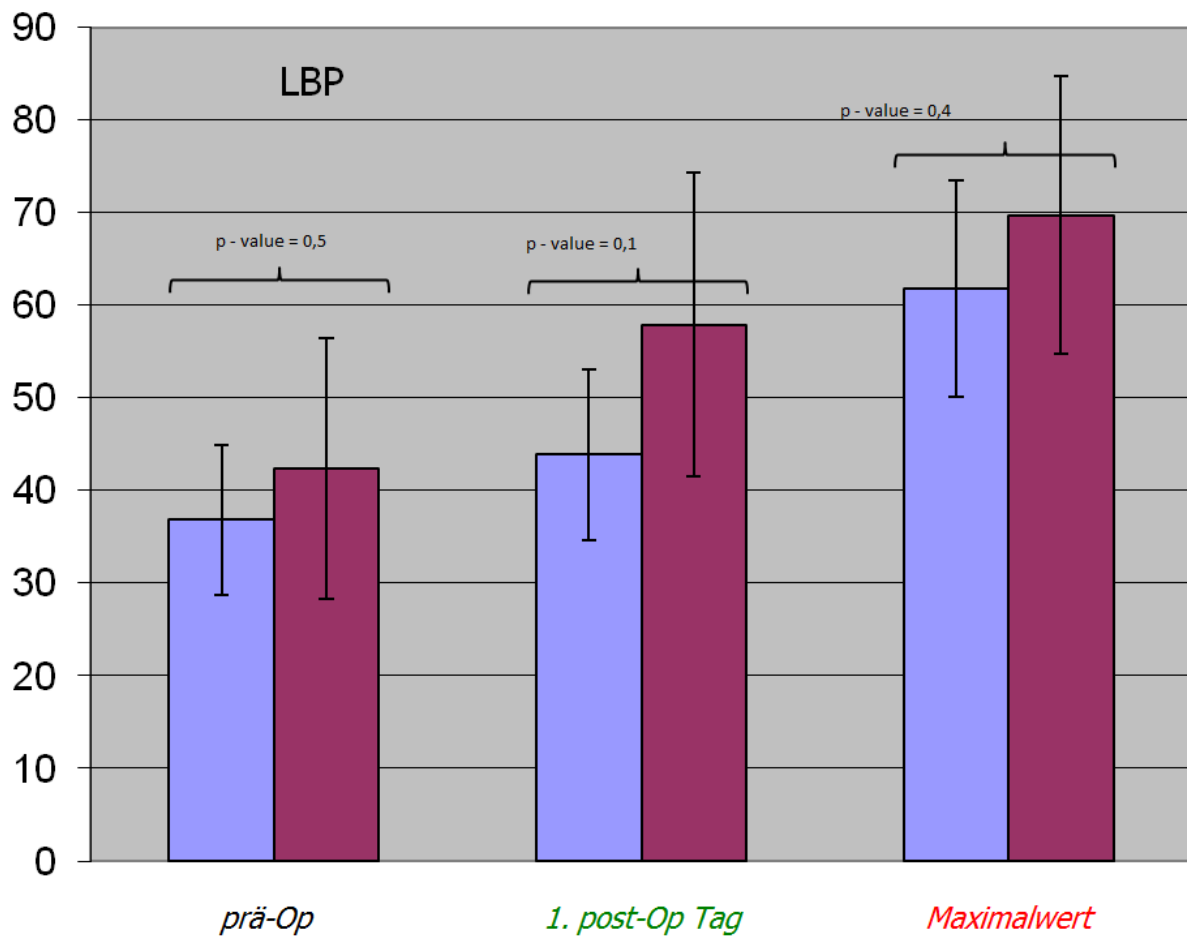


Abbildung 54: Darstellung der LBP Konzentration; blau: survivor; rot: nonsurvivor; 1: prä-Op; 2: 1. post-op. Tag; 3: Maximalwerte

6.2.4.5 Lipopolysaccharid (Endotoxin)

Im Beobachtungszeitraum, der zwischen zwei bis acht Tage andauerte, ergaben sich folgende Mittelwerte für die Endotoxinmessung:

Beobachtungszeitraum in Tagen	d0 EAA	d1 EAA	d2 EAA	d3 EAA	d4 EAA	d5 EAA	d6 EAA	d7 EAA
Anzahl	30	30	23	16	14	11	5	4
Mittelwert	0,6	0,4	0,5	0,5	0,4	0,4	0,5	0,5
SD	0,20	0,22	0,18	0,18	0,17	0,15	0,06	0,15
Konfidenz	0,07	0,08	0,07	0,09	0,09	0,09	0,05	0,15
Median	0,63	0,41	0,48	0,50	0,43	0,34	0,48	0,48
unteres 95% CI	0,5	0,4	0,4	0,4	0,3	0,3	0,4	0,3
oberes 95% CI	0,7	0,5	0,5	0,6	0,5	0,5	0,5	0,6
Maximum	1,01	0,86	0,81	0,83	0,77	0,66	0,55	0,68
Minimum	0,18	0,08	0,15	0,26	0,2	0,25	0,42	0,31

Tabelle 5: Mittelwerte für die Endotoxinaktivität über den Beobachtungszeitraum von 8 Tagen

Es ist zu beobachten, dass die Endotoxinkonzentration im Gesamtkollektiv in einem Beobachtungszeitraum von 6 Tagen (d0 –d5) einen Rückgang zeigte (d0: $0,6 \pm 0,2$, d5: $0,4 \pm 0,15$).

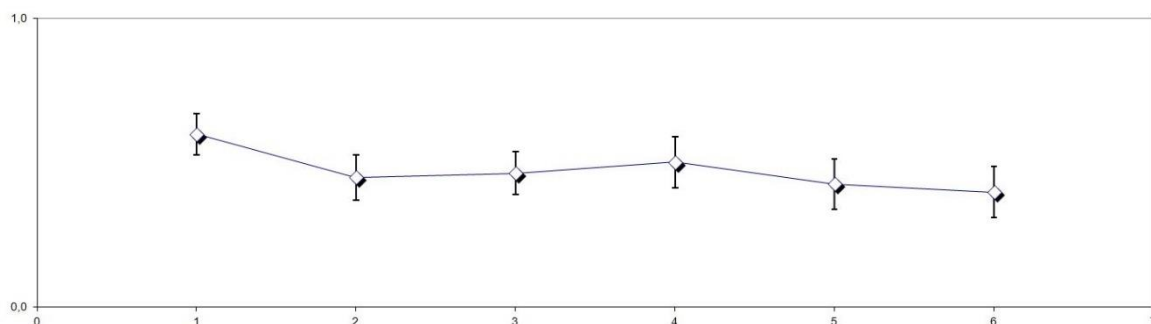


Abbildung 55: Verlauf der Endotoxinaktivität im Gesamtkollektiv im Beobachtungszeitraum von 7 Tagen

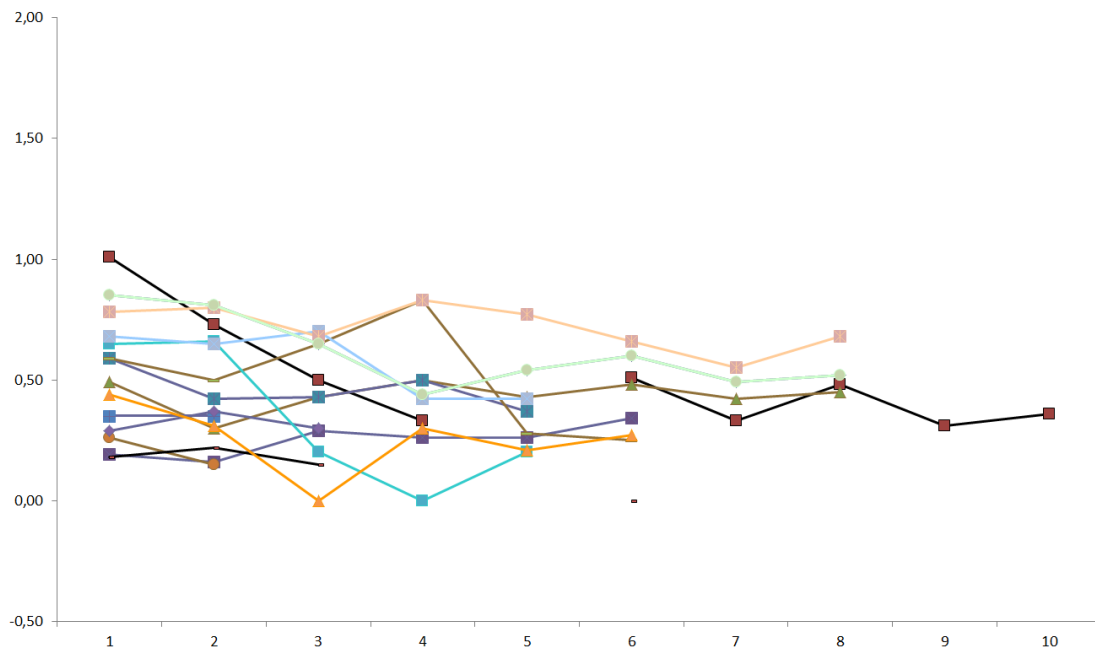


Abbildung 56: Endotoxinverlauf Patientenbezogen über den Beobachtungszeitraum von 10 Tagen (survivor)

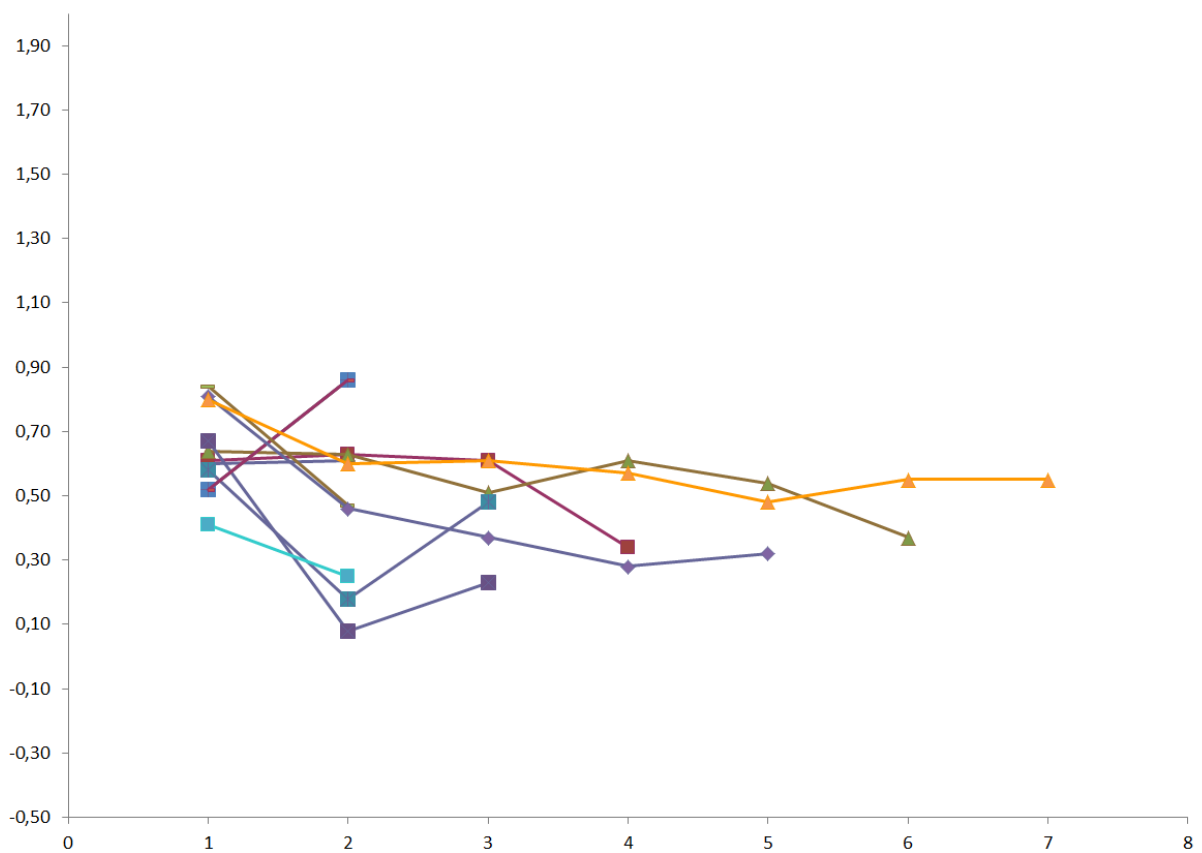


Abbildung 57: Endotoxinverlauf Patientenbezogen über den Beobachtungszeitraum von 7 Tagen (nonsurvivor)

Im Folgenden werden Mittelwerte der Endotoxin-Konzentration sowohl bei überlebenden als auch bei verstorbenen Patienten miteinander verglichen (siehe Tab. 5).

Der Vergleich der präoperativen und postoperativen Mittelwerte verdeutlicht mit dem signifikanten Abfall der postoperativen Endotoxinkonzentration eine erfolgreiche Fokussanierung mit Minderung der Endotoxinlast (survivor prä-OP: $0,6 \pm 0,2$ vs. post-OP: $0,4 \pm 0,2$ sowie nonsurvivor prä-Op: $0,7 \pm 0,1$ vs. post-Op $0,5 \pm 0,2$), wenngleich die Endotoxinspiegel bei verstorbenen Patienten im Vergleich zu den Überlebenden leicht erhöht sind.

Survivor:	<i>prä-OP</i>	<i>1.post-OP Tag</i>	<i>Maximalwert</i>
Anzahl	18,0	20,0	20,0
Mittelwert	0,6	0,4	0,6
SD	0,22	0,21	0,21
Konfidenz	0,10	0,09	0,09
Median	0,6	0,4	0,6
unteres 95% CI	0,5	0,4	0,5
oberes 95% CI	0,7	0,5	0,7
Maximum	1,01	0,81	1,01
Minimum	0,18	0,16	0,22

Nonsurvivor:	<i>prä-OP</i>	<i>1.post-OP Tag</i>	<i>Maximalwert</i>
Anzahl	10	10	10
Mittelwert	0,7	0,5	0,7
SD	0,14	0,25	0,14
Konfidenz	0,087	0,15	0,089
Median	0,7	0,5	0,7
unteres 95% CI	0,6	0,3	0,6
oberes 95% CI	0,8	0,6	0,8
Maximum	0,84	0,86	0,86
Minimum	0,41	0,08	0,41

Tabelle 6: Mittelwerte der Endotoxinkonzentration bei überlebenden und verstorbenen Patienten, jeweils am prä- und 1. postoperativen Tag, sowie Maximalwerte.

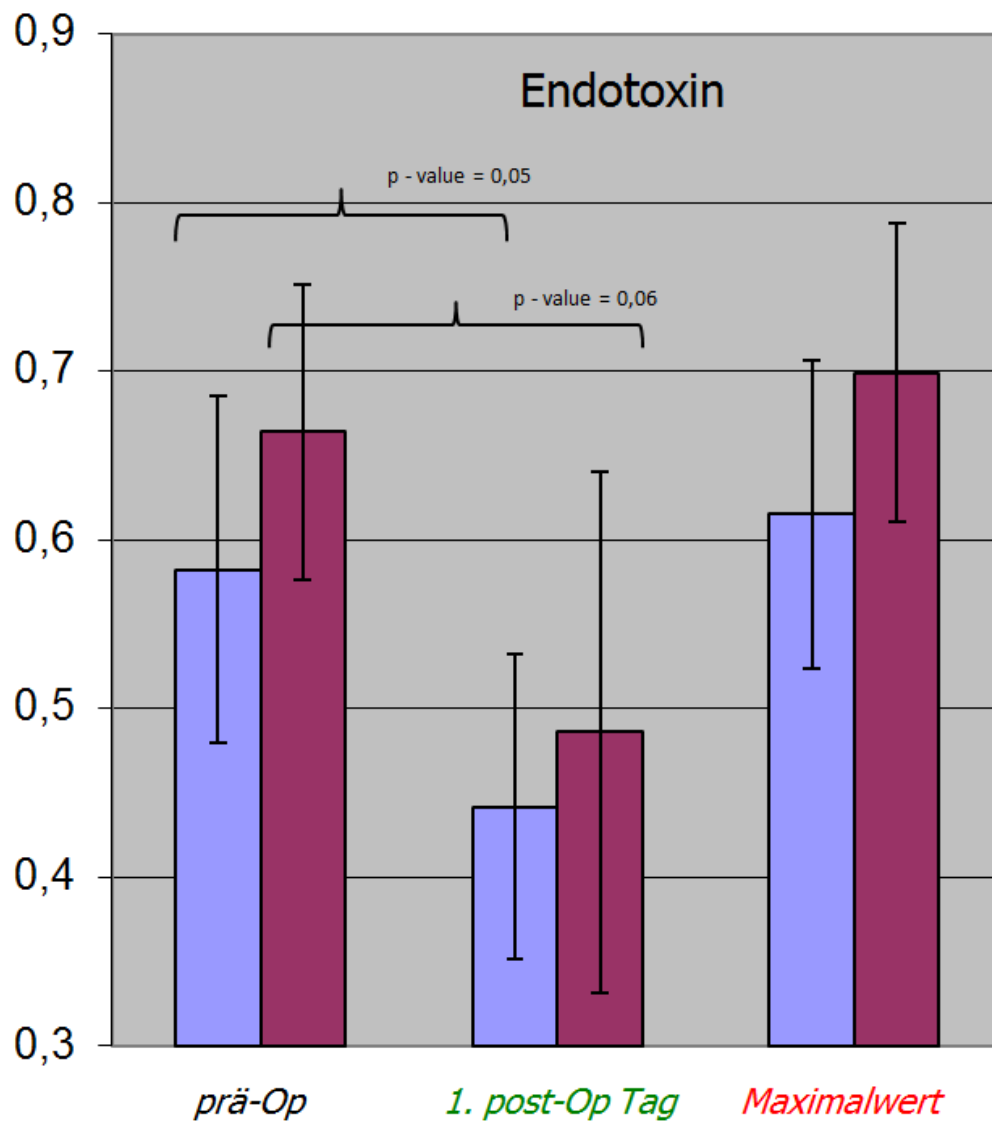


Abbildung 58: Darstellung der Endotoxin Konzentration; blau: survivor; rot: nonsurvivor; 1: prä-Op; 2: 1. post-op. Tag; 3: Maximalwert

6.2.4.6 Laktat

Im Folgenden werden Mittelwerte der Laktat-Konzentration (mmol/l) sowohl der überlebenden als auch der verstorbenen Patienten miteinander verglichen (siehe Tab. 6).

Survivor:	<i>prä-OP</i>	<i>1.post-OP Tag</i>	<i>Maximalwert</i>
Anzahl	19,0	18,0	20,0
Mittelwert	2,2	1,7	2,8
SD	1,4	1,1	1,3
Konfidenz	0,63	0,5	0,58
Median	1,8	1,3	2,3
unteres 95% CI	1,5	1,2	2,2
oberes 95% CI	2,8	2,2	3,4
Maximum	5,5	4,8	5,5
Minimum	0	0	1

Nonsurvivor:	<i>prä-OP</i>	<i>1.post-OP Tag</i>	<i>Maximalwert</i>
Anzahl	10	10	10
Mittelwert	2,8	4,3	7,2
SD	1,9	4,89	7,9
Konfidenz	1,17	2,99	4,93
Median	2,4	2,2	2,6
unteres 95% CI	1,6	1,4	2,2
oberes 95% CI	4,0	7,3	12,1
Maximum	6,1	16	21
Minimum	1	1	1

Tabelle 7: Mittelwerte der Laktat-Konzentration (mmol/l) bei überlebenden und verstorbenen Patienten, jeweils am prä- und 1. postoperativen Tag, sowie Maximalwerte.

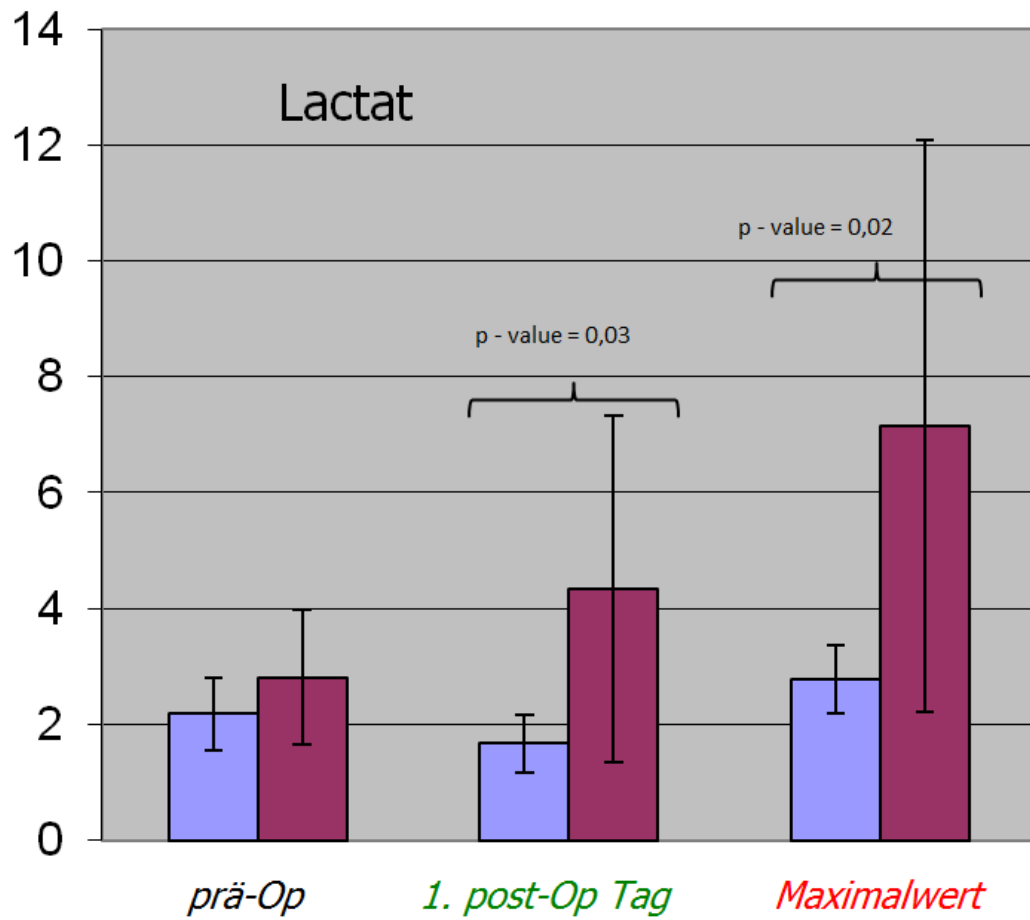


Abbildung 59: Darstellung der Laktat Konzentration; blau: survivor; rot: nonsurvivor; 1: prä-Op; 2: 1. post-Op Tag; 3: Maximalwert

6.2.4.7 NT-proBNP

Im Folgenden werden Mittelwerte der NT-proBNP Konzentration (pg/ml) sowohl der überlebenden als auch der verstorbenen Patienten miteinander verglichen (siehe Tab. 9).

Survivor:	<i>prä-OP</i>	<i>1.post-OP Tag</i>	<i>Maximalwert</i>
Anzahl	20,0	20,0	20,0
Mittelwert	2886,3	3698,0	6012,8
SD	3784,88	7541,82	9575,2
Konfidenz	1658,76	3305,29	4196,44
Median	1330,5	807,0	2151,5
unteres 95% CI	1227,5	392,7	1816,4
oberes 95% CI	4545,1	7003,2	10209,2
Maximum	14624	33084	39003
Minimum	66	151	158

Nonsurvivor:	<i>prä-OP</i>	<i>1.post-OP Tag</i>	<i>Maximalwert</i>
Anzahl	10	10	10
Mittelwert	11085,6	16155,1	19683,6
SD	14684,44	22859,51	25949,72
Konfidenz	9101,34	14168,21	16083,51
Median	4249,0	3417,5	6040,5
unteres 95% CI	1984,3	1986,9	3600,1
oberes 95% CI	20186,9	30323,3	35767,1
Maximum	43034	66794	66794
Minimum	172	198	357

Tabelle 8: Mittelwerte der NT-proBNP Konzentration (pg/ml) bei überlebenden und verstorbenen Patienten, jeweils am prä- und 1. postoperativen Tag, sowie Maximalwerte.

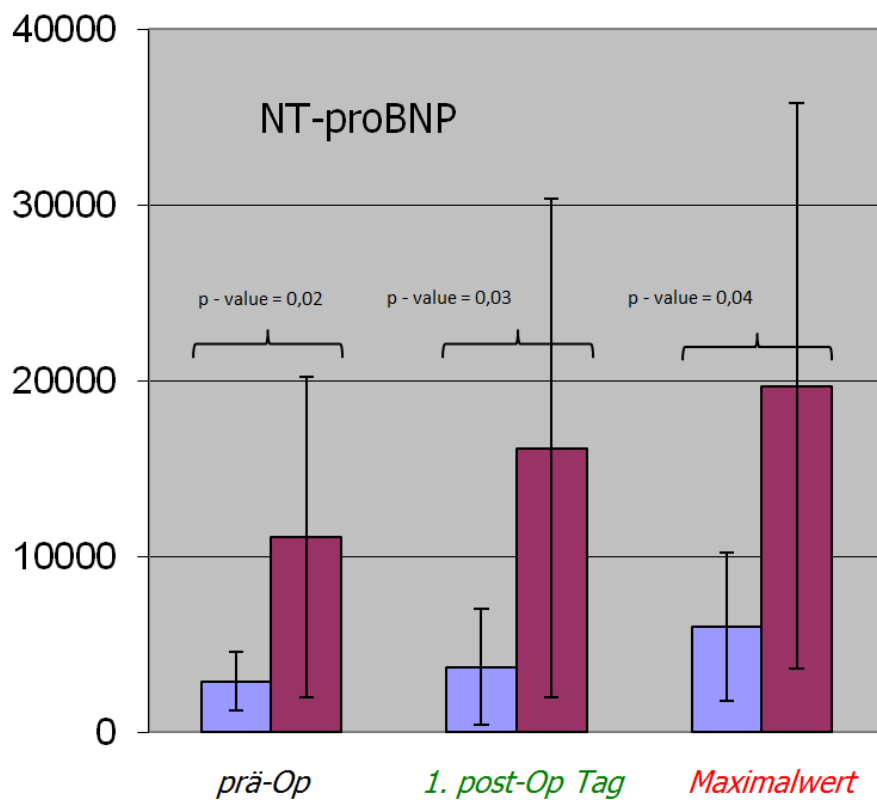


Abbildung 60: Darstellung der NT-proBNP Konzentration; blau: survivor; rot: nonsurvivor; 1: prä-Op; 2: 1. post-Op Tag; 3: Maximalwert

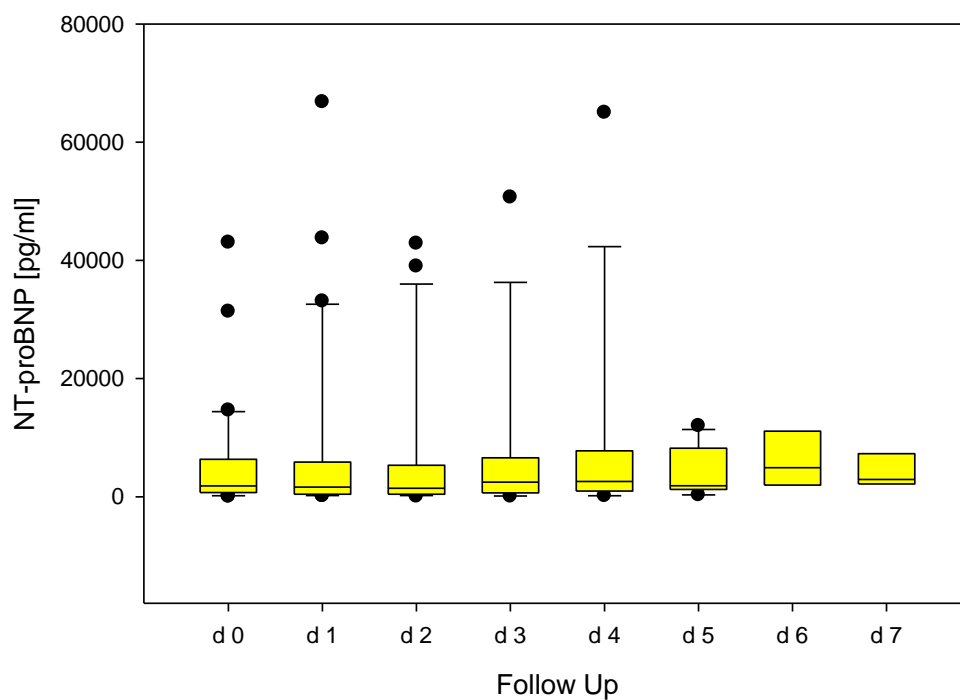


Abbildung 61: NT-pro-BNP Konzentration im Gesamtkollektiv über den Beobachtungszeitraum von 8 Tagen

6.2.4.8 Neopterin

Im Folgenden werden Mittelwerte der Neopterin Konzentration (nmol/l) sowohl der überlebenden als auch der verstorbenen Patienten miteinander verglichen (siehe Tab. 9).

Survivor:	<i>prä-OP</i>	<i>1.post-OP Tag</i>	<i>Maximalwert</i>
Anzahl	20,0	20,0	20,0
Mittelwert	44,9	41,2	58,1
SD	49,78	39,98	67,34
Konfidenz	21,82	17,52	29,51
Median	27,2	23,0	34,1
unteres 95% CI	23,1	23,6	28,6
oberes 95% CI	66,7	58,7	87,6
Maximum	189	157	283
Minimum	3,8	6,1	6,1

Nonsurvivor:	<i>prä-OP</i>	<i>1.post-OP Tag</i>	<i>Maximalwert</i>
Anzahl	10	10	10
Mittelwert	72,1	101,9	120,0
SD	61,0	87,43	97,75
Konfidenz	37,815	54,2	60,58
Median	54,6	85,4	89,4
unteres 95% CI	34,3	47,7	59,5
oberes 95% CI	109,9	156,1	180,6
Maximum	218	303	303
Minimum	20,8	13,9	21

Tabelle 9: Mittelwerte der Neopterin Konzentration (nmol/l) bei überlebenden und verstorbenen Patienten, jeweils am prä- und 1. postoperativen Tag, sowie Maximalwerte.

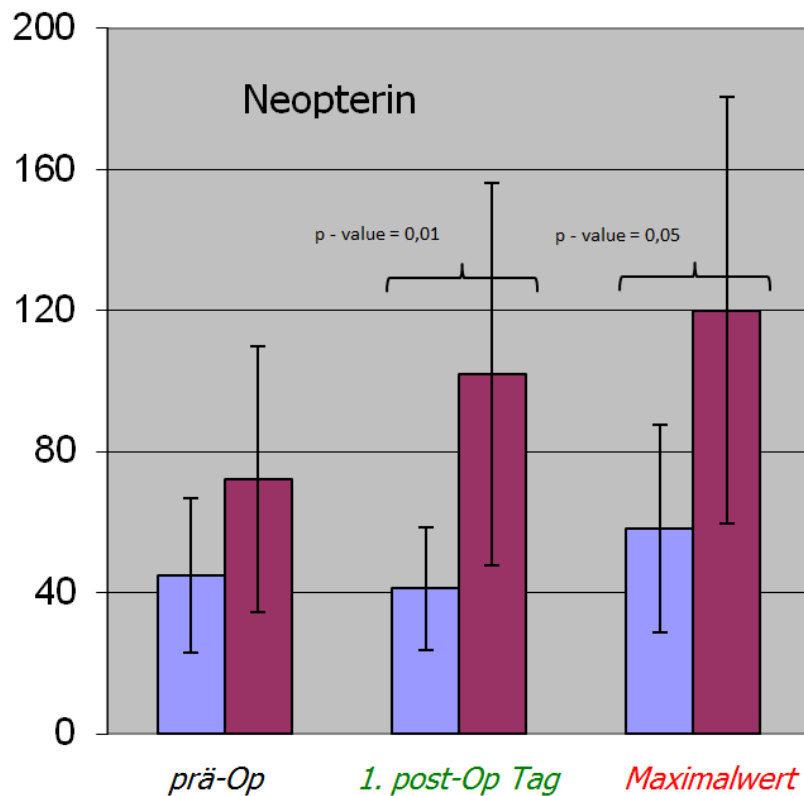


Abbildung 62: Darstellung der Neopterin Konzentration; blau: survivor; rot: nonsurvivor; 1: prä-Op; 2: 1. post-Op Tag; 3: Maximalwert

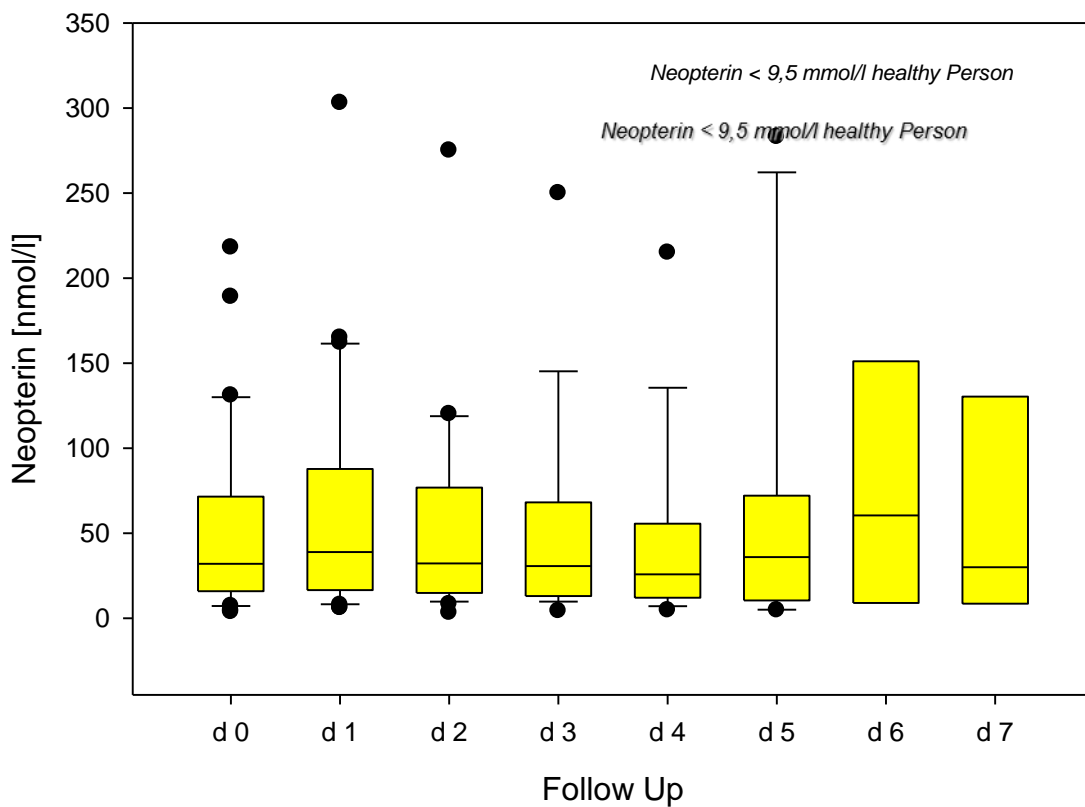


Abbildung 63: Neopterin Konzentration im Gesamtkollektiv über den Beobachtungszeitraum von 8 Tagen

6.2.4.9 Cholesterin

Im Folgenden werden Mittelwerte der Neopterin Konzentration (nmol/l) sowohl der überlebenden als auch der verstorbenen Patienten miteinander verglichen (siehe Tab. 10).

Survivor:	<i>prä-OP</i>	<i>1.post-OP Tag</i>	<i>Maximalwert</i>
Anzahl	20,0	20,0	20,0
Mittelwert	84,7	75,7	107,2
SD	29,6	18,89	30,6
Konfidenz	13	8,23	13,41
Median	81,0	74,0	104,0
unteres 95% CI	71,7	67,4	93,7
oberes 95% CI	97,6	83,9	120,6
Maximum	146	123	200
Minimum	44	48	68

Nonsurvivor:	<i>prä-OP</i>	<i>1.post-OP Tag</i>	<i>Maximalwert</i>
Anzahl	10	10	10
Mittelwert	76,5	76,3	91,4
SD	28,54	24,6	24,1
Konfidenz	17,7	15,24	14,92
Median	86,5	83,5	93,0
unteres 95% CI	58,8	61,1	76,5
oberes 95% CI	94,2	91,5	106,3
Maximum	124	120	124
Minimum	36	36	50

Tabelle 10: Mittelwerte der Cholesterin Konzentration (mg/dl) bei überlebenden und verstorbenen Patienten, jeweils am prä- und 1. postoperativen Tag, sowie Maximalwerte

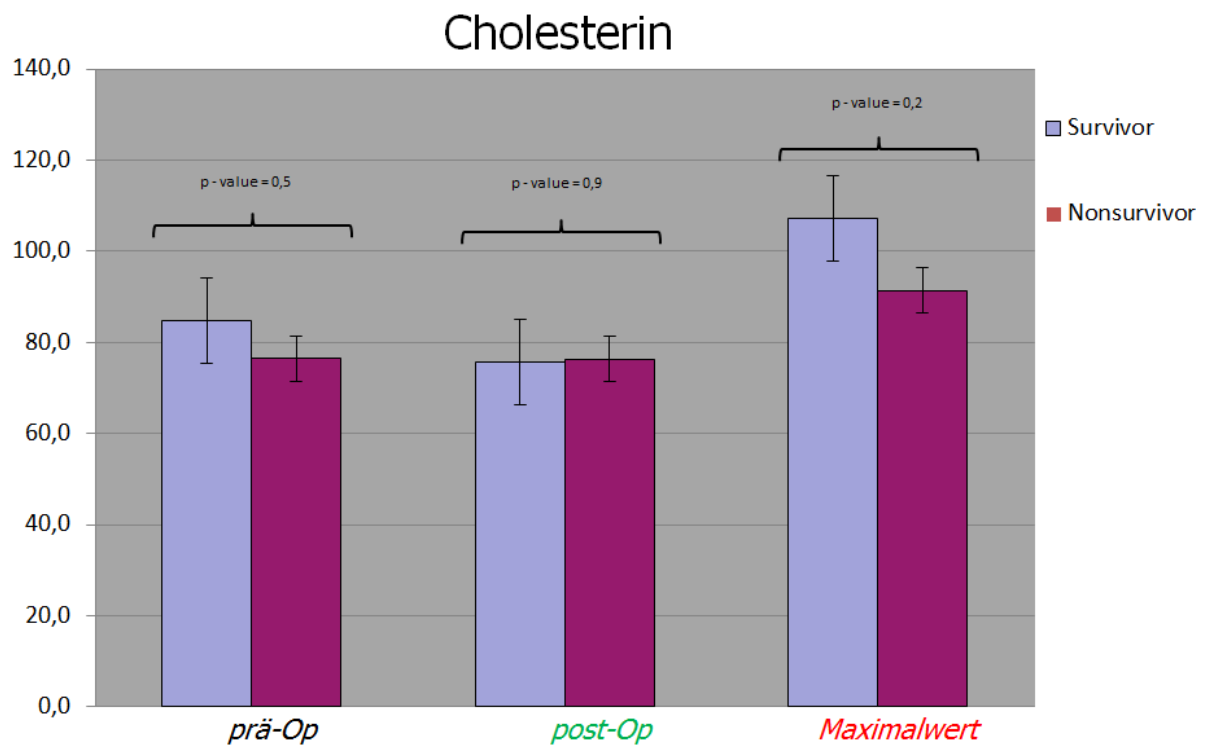


Abbildung 64: Darstellung der Cholesterin Konzentration; blau: survivor; rot: nonsurvivor; 1: prä-Op; 2: 1. post-Op Tag; 3: Maximalwert

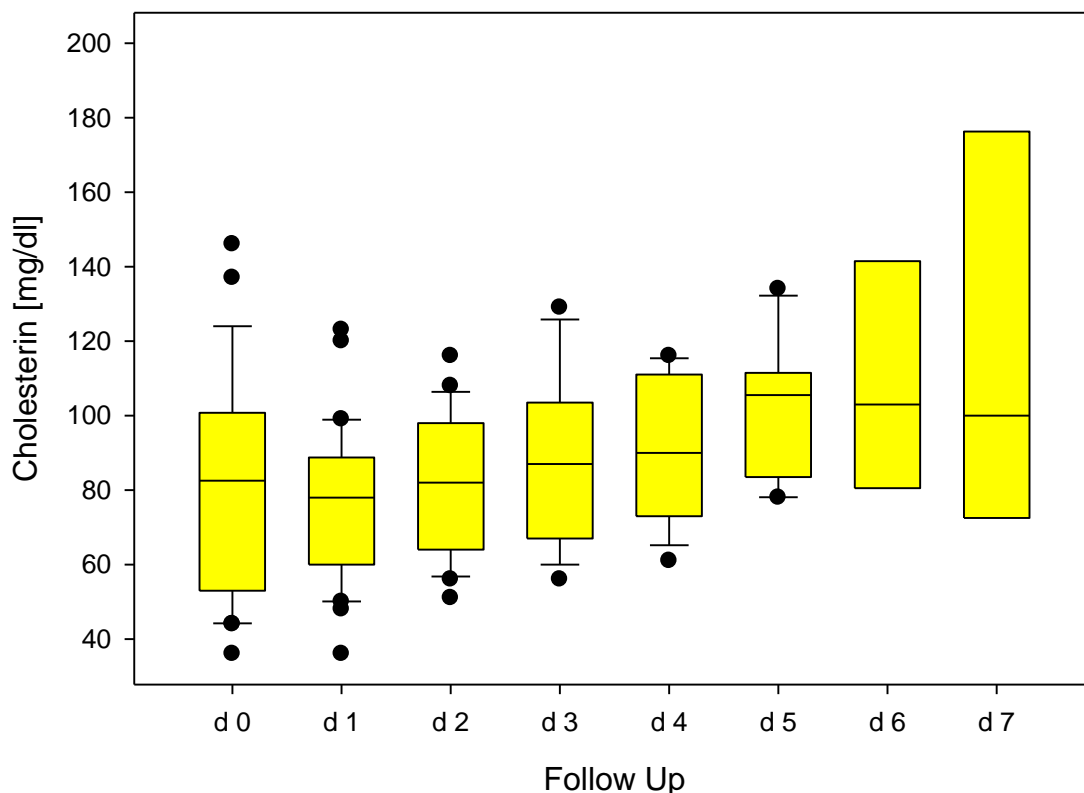


Tabelle 11: Verlauf der Cholesterinkonzentration im Gesamtkollektiv über einen Beobachtungszeitraum von 8 Tagen;

7 Rangkorrelationen der einzelnen Parameter nach Spearman

7.1 Korrelation im Beobachtungszeitraum von 6 Tagen

7.1.1 Korrelation des Endotoxins (EAA) mit IL-6

EAA	CRP	PCT	IL-6	Laktat
Tag 0	0,346	0,159	0,484	0,238
p	0,0828	0,415	0,00933	0,229
n	26	28	28	27
Tag 1	0,294	0,256	0,478	0,388
p	0,0294	0,0523	0,00017	0,00362
n	55	58	58	55
Tag 2	0,194	0,18	0,506	0,304
p	0,177	0,205	0,000173	0,0336
n	50	51	51	49
Tag 3	0,301	0,271	0,604	0,436
p	0,0526	0,0749	0,00002	0,00361
n	42	44	44	43
Tag 4	0,236	0,248	0,541	0,385
p	0,153	0,117	0,000288	0,0172
n	38	41	41	38
Tag 5	0,325	0,373	0,621	0,182
p	0,0498	0,0196	0,00003	0,28
n	37	39	39	37
	Korrelationskoeffizient			
	<i>p</i>			
	<i>n</i>			

Tabelle 12: Korrelation der Endotoxinkonzentration mit dem IL-6 in den ersten sechs Tagen des Beobachtungszeitraums

Im Beobachtungszeitraum von sechs Tagen (Tag 0 –Tag 5) zeigte sich zwischen dem EAA, der eine Endotoxinämie respektive Bakteriämie anzeigte, und dem IL-6 eine positive Korrelation ($r_s: 0,484 -0,621$). Wie bereits oben beschrieben, wird das IL-6 durch die Aktivierung des angeborenen Immunsystems über die Bindung des Endotoxins an den TLR 4 von Makrophagen ausgeschüttet.

Die gleichsinnige Bewegung beider Marker deutet zunächst darauf hin, dass eine Endotoxinämie eine Inflammation nach sich zieht, die in Form von IL-6 Erhöhung früh evident wird.

Eine positive Korrelation der Endotoxinaktivität mit CRP, PCT, Laktat und Leukozyten wurde nicht beobachtet.

7.1.2 Korrelation von IL-6 mit EAA, PCT, Laktat, Bilirubin und Copeptin

IL-6	Laktat	PCT	Bilirubin	Copeptin
Tag 0	0,612	0,599	0,479	0,604
p	0,00043	0,000504	0,01800	0,00055
n	29	30	24	29
Tag 1	0,622	0,547	0,526	0,607
p	0,0000002	0,00001	0,00023	0,0000003
n	57	60	45	59
Tag 2	0,608	0,472	0,629	0,511
p	0,000003	0,00040	0,00005	0,000122
n	50	53	35	52
Tag 3	0,663	0,564	0,581	0,511
p	0,000000275	0,0000505	0,000522	0,000376
n	45	46	32	45
Tag 4	0,495	0,636	0,415	0,578
p	0,00108	0,000003	0,0252	0,0000564
n	41	44	29	43
Tag 5	0,541	0,699	0,553	0,643
p	0,00042	0,0000002	0,0029	0,00001
n	39	41	27	40
	<i>Korrelationskoeffizient</i>			
	<i>p</i>			
	<i>n</i>			

Tabelle 13: Korrelation von IL-6 mit verschiedenen Laborparametern in den ersten sechs Tagen im Gesamtkollektiv

Ferner zeigte sich im selben Beobachtungszeitraum, dass IL-6 mit insgesamt fünf weiteren Parametern eine positive Korrelation aufwies. (siehe Tabelle oben).

7.1.3 Korrelation von PCT mit Laktat, Cholesterin, Neopterin und Copeptin in den ersten sechs Tagen im Gesamtkollektiv

PCT	Laktat	Cholesterin	Neopterin	Copeptin
Tag 0	0,480	0,613	0,441	0,409
p	0,00868	0,00033	0,01500	0,0278
n	29	30	30	29
Tag 1	0,476	-0,508	0,463	0,37
p	0,000204	0,000041	0,000222	0,00407
n	57	60	60	59
Tag 2	0,334	-0,478	0,464	0,413
p	0,018	0,00033	0,000506	0,0278
n	50	53	53	52
Tag 3	0,434	-0,566	0,475	0,479
p	0,00306	0,0000481	0,000918	0,00094
n	45	46	46	45
Tag 4	0,386	-0,612	0,474	0,552
p	0,0128	0,00001	0,00124	0,000142
n	41	44	44	43
Tag 5	0,463	-0,675	0,438	0,573
p	0,00318	0,0000003	0,00441	0,000123
n	39	41	41	40
	Korrelationskoeffizient			
	<i>p</i>			
	<i>n</i>			

Tabelle 14: Korrelation von PCT mit Laktat, Cholesterin, Neopterin und Copeptin in den ersten sechs Tagen im Gesamtkollektiv

Das Procalcitonin zeigte im Beobachtungszeitraum von 6 Tagen eine durchgehend positive Korrelation mit Cholesterin und ab dem 3. Tag eine positive Korrelation mit Copeptin. Da, wie bereits oben gezeigt wurde, das Procalcitonin mit dem IL-6 korreliert, wurde hier auf dessen Auflistung verzichtet. Das Copeptin und das Neopterin zeigten lediglich an drei Tagen (Tag 3 bis 5) respektive an einem Tag eine positive Korrelation mit dem Procalcitonin.

Eine positive Korrelation mit dem CRP und den Endotoxinwerten konnte nicht gezeigt werden (nicht in der obigen Tabelle aufgeführt).

7.2 Korrelationen in der Subgruppe „survivor“

In der Subgruppe der überlebenden Patienten war auffällig, dass sowohl die Endotoxinaktivität als auch das HMGB-1 mit keinem weiteren Parameter eine positive Korrelation zeigte.

Das IL-6 korrelierte neben PCT, Bilirubin und Copeptin auch mit Cholesterin.

Korrelationsübersicht in der Subgruppe „Survivor“:	
Endotoxin	Keine Korrelation
IL-6	PCT, Cholesterin, Bilirubin, Copeptin
PCT	IL-6, Bilirubin
Copeptin	IL-6, Bilirubin, Neopterin
Laktat	Bilirubin
Bilirubin	IL-6, PCT, Laktat
HMGB-1	Keine Korrelation

Tabelle 15: Korrelationsübersicht in der Subgruppe „Survivor“

Weder die Leukozytenzahl noch die Höhe der Temperatur zeigten eine positive Korrelation mit anderen Parametern.

7.3 Korrelationen in der Subgruppe „nonsurvivor“

In der Subgruppe der verstorbenen Patienten war hingegen bemerkenswert, dass im Gegensatz zur Gruppe der Überlebenden, das Endotoxin mit IL-6 korrelierte. Dieses wiederum korrelierte neben PCT auch mit Laktat und HMGB-1.

Es zeigte sich jedoch, im Gegensatz zur Subgruppe der Patienten, die die Sepsis überlebten, keine Korrelation mit Cholesterin.

Korrelationsübersicht in der Subgruppe „Nonsurvivor“:	
Endotoxin	IL-6
IL-6	Endotoxin, PCT, Laktat, HMGB-1
PCT	Cholesterin
Copeptin	Keine Korrelation
Laktat	Bilirubin
Bilirubin	Laktat
HMGB-1	IL-6, Laktat

Tabelle 16: Korrelationsübersicht in der Subgruppe „Nonsurvivor“

8 Grundlagen für die Interpretation der erhobenen Daten

Bevor man über die Ergebnisse diskutiert, ist es von zentraler Bedeutung, dass man die untersuchten Parameter in ihrer Funktion näher versteht, um sie in ihrer prädiktiven Wertigkeit einzuordnen. Eine eingehende Beschreibung der Prädiktoren erfolgte bereits unter dem Punkt „Entzündungsparameter und potentielle Sepsismarker“.

In der folgenden, stark vereinfachten Übersicht wurde eine schematische Darstellung des zeitlichen Zusammenspiels der diagnostischen Biomarker bei Entstehung und Verlauf der Sepsis vorgenommen.

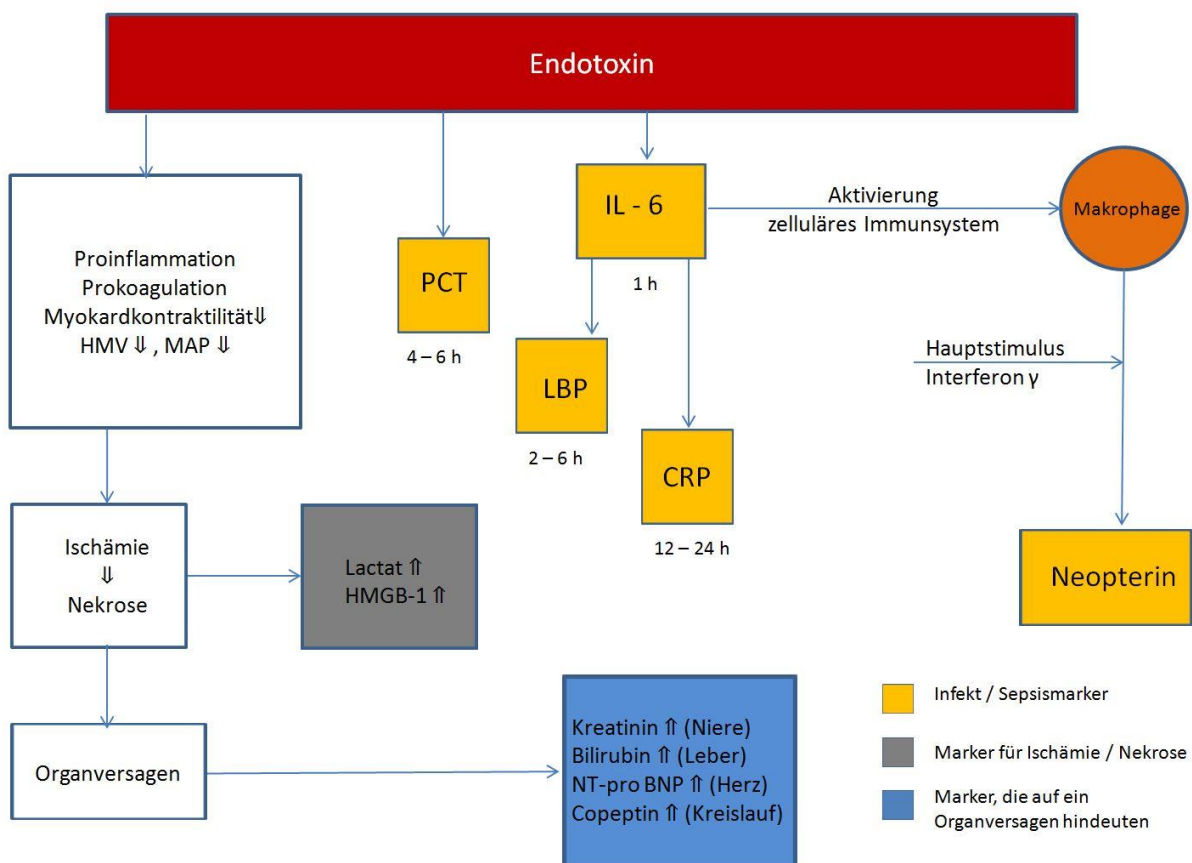


Abbildung 65: Zeitliches Zusammenspiel der Biomarker bei der Sepsis Entwicklung (stark vereinfacht)

9 Diskussion

Ziel dieser Arbeit war es, durch eine Verlaufskontrolle der Serumendotoxinkonzentration bei kritisch Kranken folgende Fragen zu beantworten:

1. Wie ist die prognostische Relevanz der Endotoxinmessung bei Patienten mit intraabdominellem Infektionsherd?
2. Welche Bedeutung hat der EAA zur Erfolgskontrolle einer operativen oder antimikrobiellen Therapie?
3. Ist der EAA als Meßparameter innerhalb des Mannheimer Peritonitis Index potentiell geeignet?

Um die erste Frage zu beantworten bedarf es näherer Betrachtung der Ergebnisse unter Zuhilfenahme der verschiedenen statistischen Tests, auf die bereits in den vorangegangenen Kapiteln ausführlich eingegangen wurde.

Betrachtet man die Letalitätsraten mit 41% respektive 37,5% in den Subgruppen der *hohen* und *mittleren* Endotoxinaktivität, wird deutlich, dass diese im Vergleich zur Sterblichkeitsrate der Subgruppe mit *niedriger* Endotoxinaktivität, in der alle Patienten überlebten, relativ hoch war.

Die Tatsache, dass die Rate der Sterblichkeit positiv mit der Menge an gemessenem Endotoxin im peripheren Blut korreliert war, oder anders formuliert, die höchste Sterblichkeit in der Subgruppe mit hoher Endotoxinaktivität festzustellen war und in der Subgruppe mit niedriger Endotoxinaktivität alle Patienten überlebten, legt nahe, dass ein statistisch signifikanter Zusammenhang besteht.

Auch die Analyse der Zahlen mittels Receiver-Operating-Characteristic-Kurve zeigt, dass die Voraussagekraft bezüglich der Letalität mit einem AUC-Wert von 0,608, der geringfügig über der Wahrheitsfläche von 0,5 lag, statistisch signifikant war. Dies deckt sich mit den Ergebnissen der MEDIC Studie, in der gezeigt werden konnte, dass im Vergleich zur Gruppe mit der niedrigen Endotoxinaktivität (EAATM-Units <0,40), die Gruppe mittlerer Aktivität (EAATM-Units 0,40 – 0,59) ein zweifach (p-Wert < 0,05) und die Gruppe mit hoher Aktivität (EAATM-Units > 0,60) ein dreifach (p-Wert < 0,001) hohes Risiko zur Entwicklung einer schweren Sepsis aufwies [129]. *Es kann*

zusammenfassend formuliert werden, dass der Krankheitsverlauf von Patienten mit einer hohen und mittleren Endotoxinaktivität, mit einer Wahrscheinlichkeit von 30–40% letal enden wird, wobei dies bei Patienten mit niedriger Endotoxinaktivität eher nicht zu erwarten ist. Man kann somit postulieren, dass die ersten Ergebnisse, auch wenn mit niedrigen Fallzahlen erhoben, darauf hindeuten, dass die Messung der Endotoxinaktivität ihren Stellenwert innerhalb der anderen Sepsis-Parameter zur Risikostratifizierung respektive prognostischen Einschätzung des Krankheitsverlaufes finden könnte.

Zur Beantwortung der zweiten Frage bedarf es einer erneuten Betrachtung der EAA-Mittelwerte. Hier ist am ersten postoperativen Tag, also nach der Fokussanierung mit konsekutiver Minderung der Endotoxinlast, eine deutliche Abnahme der Endotoxinaktivität zu erkennen (survivor prä-Op: $0,6 \pm 0,2$ vs. post-Op: $0,4 \pm 0,2$; p-Wert 0,05 sowie nonsurvivor prä-Op: $0,7 \pm 0,1$ vs. post-Op $0,5 \pm 0,2$, p-Wert 0,06).

Die Tatsache, dass dieser Markerverlauf sowohl bei überlebenden als auch bei verstorbenen Patienten zu beobachten war, verdeutlicht, dass die Ursachen der Letalität, nicht allein auf die Höhe der Endotoxinämie zurückzuführen ist, sondern die Antwort vielmehr im Grad der Aktivierung der immunologischen Reaktion zu suchen ist.

Nichtsdestotrotz ist zu konstatieren, dass auch die zweite Frage, ob der EA-Assay zur Erfolgskontrolle einer operativen Therapie geeignet wäre, positiv zu beantworten ist.

Im Falle eines sicheren Tests, der eine Sanierung eines Infektfokus zuverlässig anzeigt, könnte man auf ein Instrument zurückgreifen, welches in unklaren Fällen weitere unnötige Revisionsoperationen zu vermeiden vermag. Diese Reoperationen sind bei kritisch Kranken, die eine deutliche Immunkompromittierung aufweisen, eine zusätzliche Belastung im Sinne eines „second hits“.

Die Frage, ob die Messung der Endotoxinaktivität im Blut sich für die Optimierung des Mannheimer Peritonitis Indexes eignet, ist vor dem Hintergrund, dass das Endotoxin lediglich der Auslöser einer immunologischen Antwort und damit den Initiator des septischen Krankheitsbildes darstellt, mit „Nein“ zu beantworten. Denn es ist nach wie

vor unklar, warum manche Patienten eine ausgeprägte immunologische Antwort und damit eine schwere Sepsis entwickeln, andere wiederum nicht.

Bezüglich der dritten Frage ist somit festzuhalten, dass sich nach den Ergebnissen unserer Untersuchungen die Bestimmung der Endotoxinaktivität als Messparameter innerhalb des Mannheimer Peritonitis Indexes nicht eignet.

Auch wenn die Ergebnisse darauf hindeuten, dass der Endotoxin-Aktivitätsassays ein potentieller Sepsismarker sein könnte, kann die Studie bedingt durch die niedrige Fallzahl (n= 60) verzerrt sein. Es bedarf deshalb weiterer prospektiv angelegter Studien mit hoher Fallzahl, um die präliminären Ergebnisse zu untermauern.

Ferner war die Intention dieser Studie, den Zusammenhang weiterer, potentieller Sepsismarker in ihrer Wertigkeit innerhalb des Biomarker-Gefüges zu untersuchen.

Diesbezüglich wurde zunächst das Patientenkollektiv abhängig von der Höhe der Endotoxinaktivität (low, mid, high) in drei Subgruppen eingeteilt, um es dann bezüglich weiterer, potentieller Sepsismarker zu untersuchen bzw. Unterschiede herauszuarbeiten. Dabei zeigten sich für LBP, Cholesterin, Laktat und Neopterin statistisch relevante Unterschiede.

In der Untersuchung der LBP Werte konnte ein signifikanter Unterschied (ANOVA; $P=0,002$) bezüglich der Höhe der LBP Konzentrationen zwischen den Patienten mit niedrigen ($<0,6$ RLU) gegenüber den Patienten mit hohen Endotoxinspiegeln ($\geq 0,6$ RLU) gezeigt werden. Ebenso war eine Signifikanz ($P=0,013$) zwischen der Gruppe mit mittlerer (RLU $0,40-0,59$) und der mit hoher Endotoxinkonzentration ($\geq 0,6$ RLU) zu erkennen. Wenn man das LBP als „Rezeptor“ für das Lipopolysaccharid, betrachtet, ist es nicht verwunderlich, dass es synchron mit der Höhe desselben vermehrt synthetisiert und ins Serum sezerniert wird.

Der Vergleich der Cholesterinkonzentration in den drei Subgruppen zeigte signifikant höhere Cholesterinwerte ($P=<0,001$) bei Patienten mit mittlerer Endotoxinkonzentration im Vergleich zu Patienten mit niedriger und höherer Cholesterinkonzentration. Beim Laktat fand sich ein signifikanter Unterschied zwischen den Subgruppen niedriger und mittlerer Endotoxinkonzentration (p-Wert $0,040$).

Im Vergleich der Neopterin Werte zeigte sich, dass sowohl die Gruppe der Patienten mit niedriger, als auch die mit hoher Endotoxinkonzentration signifikant höhere Werte ($P < 0,05$) im Vergleich zu Patienten mit mittlerer Endotoxinkonzentration aufwiesen.

Untersuchungen der drei Subgruppen bezüglich HMGB-1, IL-6, Bilirubin, Copeptin sowie NT-pro BNP zeigten keine signifikanten Unterschiede.

Die Methode, in der das Patientenkollektiv bezüglich seiner Endotoxin Last (low, mid, high) in drei Subgruppen eingeteilt wurde, hatte die Intention, den Zusammenhang der Endotoxinlast mit der Dynamik von weiteren, potentiellen Sepsis Markern zu untersuchen. Die oben genannten Ergebnisse wurden zwar erhoben, wobei die Interpretation derselben, in Bezug auf Einordnung ihrer Rolle innerhalb der pathophysiologischen Vorgänge in der Entwicklung einer schweren Sepsis, sich als schwierig darstellte. Exemplarisch kann an dieser Stelle der Vergleich der Neopterin Konzentrationen in den drei Subgruppen erwähnt werden. Diskrepant war dabei, dass Patienten mit niedrigen und hohen Endotoxin Konzentrationen höhere Neopterin Konzentrationen zeigten, als die mit mittleren Endotoxin Werten. Betrachtet man die Serumkonzentration des Neopterins als ein Maß für die Aktivierung des zellulären Immunsystems, wie dies die aktuell vorherrschende Lehrmeinung vertritt [117], so ist es schwer nachvollziehbar, warum das Immunsystem bei niedrigerer Endotoxinlast stärker aktiviert wird, als bei Patienten mittlerer Endotoxinlast. Ähnlich diskrepante Ergebnisse konnten auch bei Laktat und Cholesterin Werten beobachtet werden. So war auffällig, dass ausgerechnet die Gruppe mit niedriger Endotoxinkonzentration signifikant höhere Laktat-Werte aufwies als die mit mittlerer Endotoxin Konzentration ($P = 0,040$). Diese Überlegungen ließen die Schlussfolgerung zu, dass diese unerwarteten Ergebnisse entweder durch uns nicht bekannte, komplexe pathophysiologische Vorgänge oder vielmehr durch eine statistische Verzerrung, hervorgerufen sein könnten. Der Fehler in der Datenerhebung könnte darin liegen, dass man die Daten aller Patienten, unabhängig davon ob sie prä- oder postoperativ erhoben wurden, allein abhängig von der Höhe ihrer Endotoxinkonzentration, kumulativ auswertete. Ein weiterer wichtiger Aspekt wäre die Differenzierung von überlebenden und verstorbenen Patienten. Denn dieser Endpunkt hat eine gravierende Aussagekraft über die Schwere der septischen Erkrankung.

In der Zusammenschau dieser Ergebnisse war klar, dass dieser Denkansatz keinen wegweisenden Erkenntnisgewinn zur Beantwortung unserer Fragen erbrachte. Als Schlussfolgerung erfolgte eine Änderung der Vorgehensweise bezüglich Analyse und Interpretation der Ergebnisse. Hierzu wurden die untersuchten Patienten entsprechend des Endpunktes „Überleben“ in die Gruppen „Survivor“ und „Nonsurvivor“ eingeteilt. Auf dieser Grundlage wurden alle Parameter hinsichtlich ihrer Eignung als Surrogatmarker für die Letalität bei kritisch kranken Patienten überprüft.

Betrachtet man nun diese biochemisch doch sehr unterschiedlichen Marker bezüglich ihrer Dynamik, so fällt auf, dass sie sich in der Gruppe „Nonsurvivor“ in zwei Subgruppen einteilen lassen.

Die erste Gruppe zeigt zwar präoperativ hohe Serumwerte, die jedoch postoperativ signifikant *abfielen*, und somit hinweisend für eine erfolgreiche Sanierung des Infektfokus sein können. Dazu gehören neben dem EAA auch das IL-6 sowie das PCT.

Die zweite Gruppe der Marker zeigt präoperativ sowohl niedrige als auch hohe Werte, die jedoch postoperativ in der Gruppe der „Nonsurvivor“ ausnahmslos einen *Anstieg* zeigen. Dies könnte hinweisend dafür sein, dass ihrer Hoch- oder Herabregulation andere Mechanismen zugrunde liegen, die je nach Marker sich deutlich voneinander unterscheiden. Zu dieser Gruppe zählen das LBP, das Neopterin, das HMGB-1, das Laktat sowie das NT-proBNP.

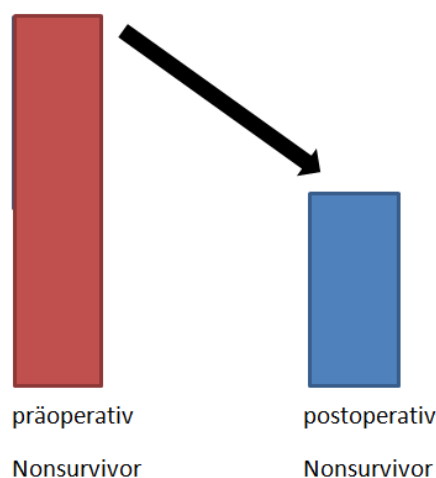


Abbildung 66: Subgruppe1; abfallende Dynamik der Biomarker innerhalb der Nonsurvivor Gruppe; EAA, IL-6, PCT

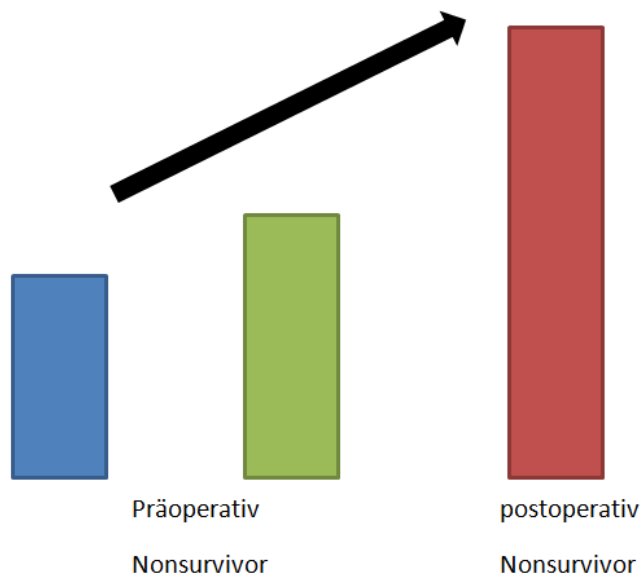


Abbildung 67: Subgruppe 2; ansteigende Dynamik der Biomarker innerhalb der Nonsurvivor Gruppe; LBP, Neopterin, HMGB-1, Laktat, NT-proBNP

So ist bemerkenswert, dass in der näheren Betrachtung der Neopterin Mittelwerte, die verstorbenen Patienten postoperativ einen Anstieg der Serumkonzentration zeigten (nonsurvivor prä-op: $72,1 \pm 61$ nmol/l vs. post-op $102 \pm 87,4$ nmol/l, p-Wert=0,4), obwohl die Überlebenden nach der Fokussanierung einen leichten Rückgang derselben aufwiesen (survivor prä-op: $44,9 \pm 49,78$ nmol/l vs. post-op: $41,2 \pm 40$ nmol/l). Statistisch signifikanter ist jedoch der Unterschied im direkten Vergleich der postoperativen Neopterin-Konzentrationen der beiden Gruppen Survivor vs. Nonsurvivor (Survivor - post-Op: $41,2 \pm 40$ nmol/l vs. Nonsurvivor - post-Op $102 \pm 87,4$ nmol/l, p – value = 0,01). Vor dem Hintergrund der Tatsache, dass die Neopterinkonzentration den Aktivierungszustand des zellulären Immunsystems wiedergibt [117], scheint diese Beobachtung die Erkenntnis zu bestätigen, dass die hohe Letalitätsrate bei kritisch Kranken eher durch eine überschießende Immunreaktion ausgelöst ist und nicht durch das Ausmaß der Endotoxinämie.

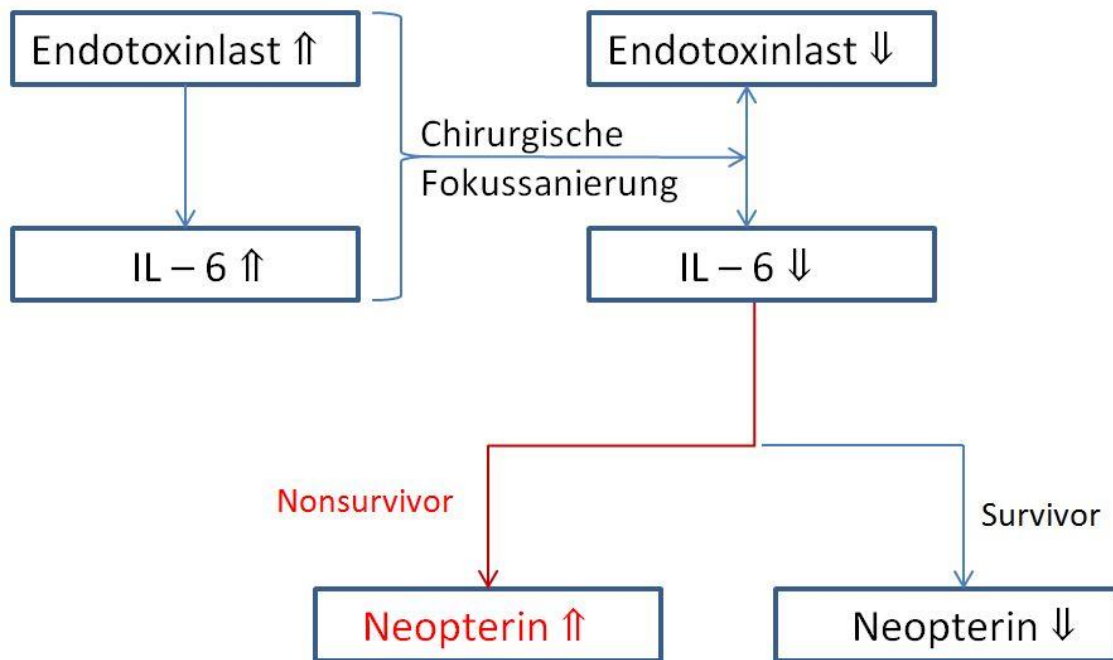


Abbildung 68: Zusammenhang zwischen Endotoxinlast, IL-6 und Neopterin im Vergleich der Subgruppen Nonsurvivor vs. Survivor

Die Messung Endotoxinaktivität sei exemplarisch für die erste Gruppe erwähnt, die postoperativ einen signifikanten Rückgang im Sinne einer erfolgreichen Fokussanierung und somit eine Minderung der Endotoxinlast zeigte. Obgleich das IL-6 auch einen postoperativen Rückgang verzeichnet, deutet dies im Gegensatz zum Endotoxin nicht auf eine erfolgreich durchgeführte operative Beseitigung des Infektherdes hin, sondern vielmehr die dadurch bedingte Downregulierung des Immunsystems.

Es ist jedoch nicht zu übersehen, dass Patienten, die ihre Erkrankung nicht überlebten, sowohl prä- als auch postoperativ (Nonsurvivor prä-op: 15299 ± 30845 pg/ml, post-op: $7017,7 \pm 16504$ pg/ml) deutlich höhere IL-6 Werte aufwiesen. Vergleicht man die präoperativen Werte der überlebenden und verstorbenen Patienten, stellt man fest, dass die verstorbenen Patienten einen nahezu fünffach höheren IL-6 Wert aufwiesen als die, die überlebten (survivor, prä-op: $3202,4 \pm 6754$ pg/ml vs. nonsurvivor prä-op: 15299 ± 30845 pg/ml, p-Wert=0,1). Der Vergleich der postoperativen Werte zeigt sogar einen siebenfach höheren IL-6 Wert in der Gruppe der verstorbenen Patienten (survivor, post-op: $1132,5 \pm 2300$ pg/ml vs. nonsurvivor post-op: $7017,7 \pm 16503$ pg/ml, p-Wert=0,1).

Bemerkenswert ist auch die Beobachtung, dass im Gegensatz der Gruppe „Nonsurvivor“, wo das IL-6 mit dem Endotoxin eine positive Korrelation (r_s : 0,539) zeigt, dies jedoch in der Gruppe der „Survivor“ nicht der Fall ist. Dieser Befund ist insoweit interessant, als er die Feststellung zulässt, dass erst die initiale Zündung der immunologischen Antwort durch das IL-6 [64] zu einer höheren Letalitätsrate zu führen scheint.

Anders formuliert würde man feststellen können, dass eine Endotoxinämie erst dann zu hohen Letalitätsraten führt, wenn sie mit einem hohen Maß an IL-6 Ausschüttung einhergeht, welche die Hochregulierung der immunologischen Antwort auslöst und somit die Sepsis außer Kontrolle gerät.

Möchte man nun die Sensitivität des IL-6 bezüglich der Letalität mit Hilfe der ROC-Kurve verifizieren, zeigt sich ein AUC-Wert von 0,589, der sich knapp über der Wahrheitsfläche von 0,5 befindet. Auch wenn IL-6 dabei deutlich hinter dem AUC-Wert von PCT (0,770) bleibt, ist mit einem Wert von größer 0,5 die Nullhypothese zu verwerfen.

Analysiert man den Zusammenhang von IL-6 mit den anderen Parametern von verstorbenen Patienten mit Hilfe des Spearmans Rangkorrelationskoeffizienten, so kann man feststellen, dass Procalcitonin (r_s : 0,52), HMGB-1 (r_s : 0,552), Laktat (r_s : 0,586) und das Endotoxin (r_s : 0,539) eine deutlich positive Korrelation mit dem IL-6 zeigten.

Wenn man diese Beobachtung genauer charakterisieren möchte, muss man den Stellenwert der einzelnen Parameter näher beleuchten. Eine Bakteriämie löst eine immunologische Reaktion des Organismus aus. Das Endotoxin hat negative Auswirkungen auf die Hämodynamik und auf das plasmatische Gerinnungssystem, so dass eine vermehrte prokoagulatorische Aktivität und ein Abfall des mittleren arteriellen Druckes zu einer Minderperfusion im Gewebe führen, die am Anstieg der Serumlaktatkonzentration erkennbar wird.

Die Abnahme der Oxygenierung hat zur Folge, dass die Organe in ihrer Funktion kompromittiert werden, was im weiteren Verlauf zum Organversagen führen kann. Die Zunahme der organspezifischen Biomarker, wie z.B. Copeptin und Bilirubin, die

zumindest eine ungünstige Beeinflussung der entsprechenden Organfunktionen anzeigen, weisen darauf hin.

Insgesamt unterstützt das o.g. Zusammenspiel der einzelnen Parameter die aktuelle Theorie über den Ablauf der Sepsis in verschiedenen Krankheitsphasen: Sepsis, schwere Sepsis, septischer Schock sowie Multiorganversagen, die ineinander übergehen und als ein Krankheitskontinuum zu verstehen sind.



Abbildung 69: Sepsis als Krankheitskontinuum

Auch wenn das IL-6 sich am Beginn der immunologischen Kaskade befindet, ist festzuhalten, dass es im Hinblick auf die Spezifität und Sensitivität in der Sepsis-Diagnostik dem Procalcitonin nicht überlegen ist.

So fiel in unserem Patientenkollektiv auf, dass die verstorbenen Patienten sowohl prä- als auch postoperativ deutlich höhere PCT-Werte aufwiesen, als Überlebende der Sepsis. Der präoperative PCT Mittelwert der verstorbenen Patienten war mit $37 \pm 55 \text{ ng/ml}$ nahezu um das Vierfache höher als der von Überlebenden mit $9,2 \pm 11 \text{ ng/ml}$ ($p\text{-Wert}=0,04$). Bemerkenswert ist jedoch, dass auch wenn die PCT Konzentration der verstorbenen Patienten nach der Fokussanierung (1. post-OP Tag) einen bedeutenden Abfall auf einen Mittelwert von $25 \pm 31 \text{ ng/ml}$ aufwies, dies bei überlebenden Patienten, die im Mittel Werte von $9,5 \pm 12,22 \text{ ng/ml}$ zeigten, nicht der Fall war. Hier war ein nahezu gleicher Wert zu beobachten.

Die Auswertung der Procalcitonin Werte anhand der ROC-Kurve auf Sensitivität bezüglich Letalität, zeigte, dass sich die AUC mit einem Wert von 0,770 deutlich über der definierten Wahrheitsfläche von 0,5 befand, und somit den hohen Stellenwert des Procalcitonins als Prädiktor in der Sepsisdiagnostik bestätigt.

Die Korrelationsanalyse mit Hilfe des Spearmans Rangkorrelationskoeffizienten ergab, dass neben dem IL-6 (rs: 0,52) auch das Cholesterin (rs: 0,684) eine deutliche Korrelation mit Procalcitonin zeigte.

Die gleichsinnige Bewegung von IL-6 als Infektmarker mit dem Procalcitonin erscheint nahe liegend. Bezüglich der Dynamik der Serum-Cholesterinkonzentration bei septischen Patienten liegen jedoch noch wenige Erfahrungen vor, so dass der Stellenwert dieses Parameters in der täglichen Routine noch nicht näher eingeordnet werden kann.

Betrachtet man die Cholesterinkonzentrationen in unserem Patientenkollektiv, so fällt auf, dass diese zu Beginn nicht nur niedrige Werte aufweisen, sondern sich auch nach der Infektsanierung sukzessive erholen. Dieses Phänomen scheint zunächst die Ergebnisse vieler Studien zu bestätigen, bei denen die Hypcholesterolämie mit schlechten Überlebensraten einhergeht [134-136]. Ferner wurde in einer 2013 durchgeführten Studie am Tiermodell gezeigt, dass die Regulation der Cholesterolbiosynthese im Lebergewebe abhängig von der Art des pathogenen Erreger ist [137]. So führte die Infektion von Mäusen mit Pneumokokken zu einer Hochregulation der Cholesterolbiosynthese, wobei es im Gegensatz zum Pneumoniemodell bei Peritonitis zu einer Herabregulation derselben kam. Dies deutet auf eine Abhängigkeit der adaptiven Wirtsantwort von Infektionsfokus respektive Erregerspektrum im Rahmen der Sepsis hin, wobei die genaue Rolle des Cholesterins innerhalb der Sepsismarker bisher unzureichend erforscht ist. Um eine valide Aussage über die Zusammenhänge treffen zu können, sollten prospektiv angelegte Studien mit genauer Differenzierung der Sepsis nach Infektfokus und auslösenden Erregern forciert werden.

Wie bereits oben erwähnt, stellt die Sepsis ein Krankheitskontinuum dar, das bedingt durch die disseminierte intravasale Gerinnung mit Mikrothrombenbildung und Ischämie, im ungünstigsten Fall zum Multiorganversagen mit letalem Ausgang führt. Dieser Pathomechanismus wird am besten durch das Laktat, das am Ende der anaeroben Glykolyse vermehrt anfällt, abgebildet.

Wenn wir in der Subgruppe der „Nonsurvivor“ uns erneut die eingangs erwähnten zwei Gruppen von Markern vor Augen führen, würde man das Laktat mit seiner postoperativ progredienten Dynamik, eher in die zweite Gruppe einordnen.

In unserem Patientenkollektiv zeigte sich, dass das präoperative Serum-Laktat sowohl bei überlebenden als auch bei verstorbenen Patienten niedrig war und nahezu identische Werte aufwies (Survivor prä-op: $2,2 \pm 1,4$ mmol/l vs. Nonsurvivor prä-op: $2,8 \pm 1,9$ mmol/l, p-Wert=0,31), wobei postoperativ sich ein gravierender Unterschied zwischen den zwei Gruppen abzeichnete. Die Laktat Serumkonzentration war in der Nonsurvivor Gruppe im Mittel um mehr als doppelt so hoch als in der Survivor Gruppe. (Survivor post-op: $1,7 \pm 1,1$ mmol/l vs. Nonsurvivor post-op $4,3 \pm 4,8$ mmol/l, p-Wert=0,031).

Aus klinischer Erfahrung wissen wir, dass hohe Laktat Werte auch mit einer hohen Letalität einhergehen, wobei die Überprüfung der Sensitivität bezüglich der Letalität Anhand der ROC Kurve, mit einem Wert von 0,481 unter der der Wahrheitsfläche von 0,5 blieb und somit eher ein zufälliges Ergebnis anzeigte.

Auffällig ist, dass dieser Unterschied ab dem ersten postoperativen Tag gravierend war und suggeriert somit die Annahme, dass dies durch den chirurgischen Eingriff hervorgerufen oder zumindest getriggert wurde. Vor diesem Hintergrund ist unumgänglich, dass diese Parameter, zur validen Überprüfung ihrer Vorhersagekraft bezüglich Letalität, ohne die präoperativen Werte überprüft wurden.

Infolgedessen haben wir die Vorhersagekraft dieses Prädiktors nach Ausschluss der präoperativen Werte überprüft.. Dabei zeigte sich ein größerer Flächenwert (AUC) von 0,576, als der, der aus den kumulativen Daten errechnet wurde.

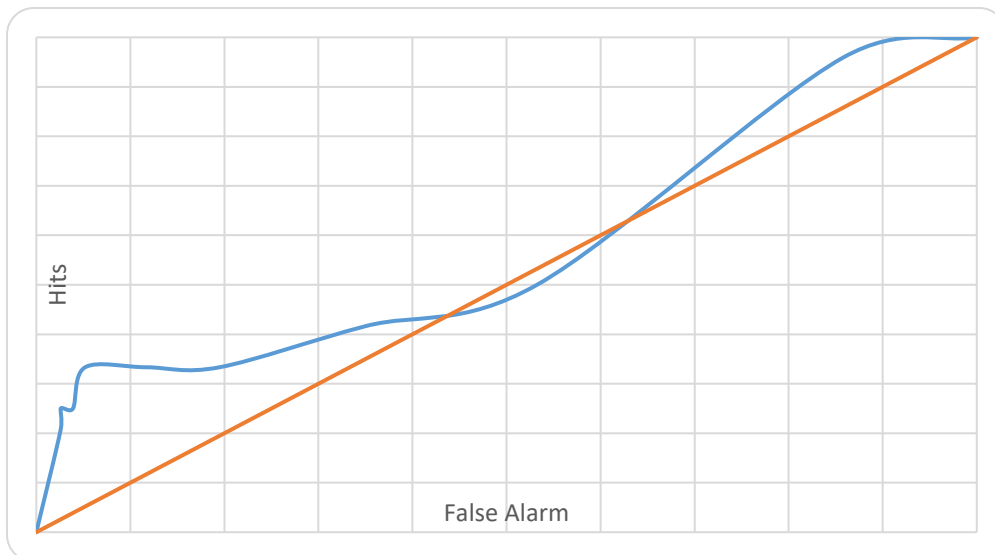


Abbildung 70: ROC-Kurve für Laktat ohne Berücksichtigung der präoperativen Werte; (AUC von 0,576).

Es war nicht zu übersehen, dass eine ähnliche Dynamik bei den HMGB-1 Werten zu beobachten war. Bei nahezu identischen, präoperativen HMGB-1 Werten sowohl der überlebenden als auch der verstorbenen Patienten (prä-op Survivor: $2,5 \pm 1,5\text{ng/ml}$ vs. Nonsurvivor: $3,2 \pm 1,8\text{ng/ml}$, p-Wert=0,32), war postoperativ ein fast dreizehn Fach höherer Wert in der „Nonsurvivor“ Gruppe zu verzeichnen als in der von Überlebenden (post-op Survivor: $1,8 \pm 1,1$ vs Nonsurvivor: $26,7 \pm 57,2\text{ng/ml}$, p-Wert=0,056).

Wenn man aber die HMGB-1 Werte anhand der Receiver-Operating-Characteristic-Kurve (kurz ROC-Kurve) auf Sensitivität bezüglich Letalität überprüft, ist zu beobachten, dass sich die AUC mit einem Wert von 0,498 leicht unter der definierten Wahrheitsfläche von 0,5 befindet und somit ein zufälliges Ergebnis anzeigt.

Deshalb bedienten wir uns auch hier der Methodik, die wir auch bei Laktat anwendeten. Auch hier zeigte sich nach Ausschluss der präoperativen Werte ein größerer Flächenwert (AUC) von 0,507. Trotz des geringen Unterschiedes zum Vorwert, darf man in diesem Zusammenhang nicht außer Acht lassen, dass der moderate Aufwärtstrend der AUC zwar nicht beweisend ist, jedoch auch nur nach Ausschluss eines Wertes pro Patienten (präoperativer Tag) resultierte. Nichtsdestotrotz ist ein AUC Wert, der sich in der Nähe von 0,5 befindet, hinsichtlich seiner Aussagekraft nicht aussagekräftig.

Überprüft man den Zusammenhang von HMGB-1 mit den anderen Parametern von verstorbenen Patienten mit Hilfe des Spearmans Rangkorrelationskoeffizienten, so fällt auf, dass neben dem IL-6 (r_s : 0,552) auch das Laktat (r_s : 0,661) eine deutliche Korrelation zeigt. Wenn man bedenkt, dass ein Laktatanstieg häufig mit anaeroben Vorgängen, wie z.B. bei Ischämie und damit verbundenem Zelluntergang einhergeht, ist dies nicht verwunderlich.

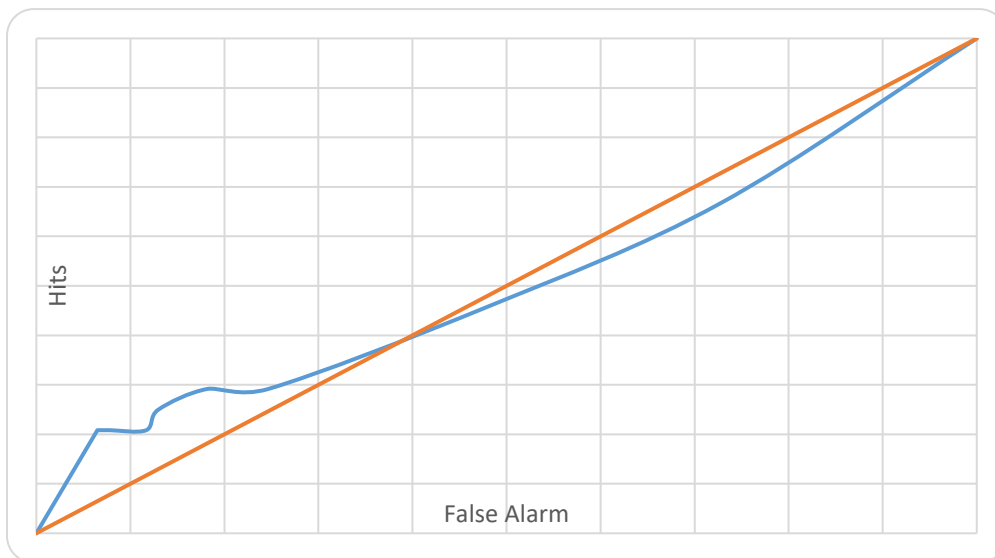


Abbildung 71: ROC-Kurve für HMGB-1 ohne Berücksichtigung der präoperativen Werte; (AUC von 0,507).

Zusammenfassend kann konstatiert werden, dass postoperativ sowohl das Laktat als auch das HMGB-1 bei Patienten, die die Sepsis nicht überlebten im Vergleich zu denen, die überlebten einen deutlichen Anstieg zeigten. Warum dies jedoch erst ab dem ersten postoperativen Tag, also nach der Herdsanierung auffällig wird, wirft Fragen auf, die durch weitere Studien zu beantworten wären. Eine der möglichen Erklärungen wäre, dass der operative Eingriff zum einen die Einschwemmung der pathogenen Erreger in die Blutbahn begünstigt und zum anderen, wie eingangs bereits beschrieben, zur Immunkompromittierung führt [35]. Vor diesem Hintergrund ist natürlich auch der operative Eingriff selbst als ein Trigger einzustufen, der den weiteren Krankheitsverlauf deutlich mit beeinflusst, ja sogar beschleunigt. Ähnliche Schwierigkeiten bestehen in der Interpretation der NT-proBNP Ergebnisse. Auch wenn alle Patienten im Vergleich zu Gesunden hohe NT-proBNP Werte aufwiesen (>400 pg/ml), ist es nicht zu

übersehen, dass die Konzentration bei den überlebenden Patienten sowohl prä- als auch postoperativ (prä-op survivor $2886 \pm 3784,9\text{pg/ml}$ vs. Nonsurvivor $11085 \pm 14684,4\text{pg/ml}$, p-Wert=0,02) – (post-op survivor $3698 \pm 7541,8\text{pg/ml}$ vs. Nonsurvivor $16155,1 \pm 22859,5\text{pg/ml}$, p-Wert= 0,03) signifikant niedriger war als bei denen, die die Erkrankung nicht überlebten. Die kritische Frage, ob die verstorbenen Patienten bereits präoperativ eine höhergradige Herzinsuffizienz aufwiesen, die sich im postoperativen Verlauf aggravierte, konnte anhand von uns erhobener Datum nicht festgestellt werden. (Nonsurvivor prä-op: $11085 \pm 14684,4\text{pg/ml}$ vs. post-op $16155,1 \pm 22859,5\text{pg/ml}$, p-Wert=0,6).

Es ist allgemein bekannt, dass eine Ischämie zum Zelluntergang und somit zur Funktionsbeeinträchtigung des entsprechenden Gewebes bzw. Organs führt. Auch hier bleibt unklar, ob die Herzinsuffizienz auf eine bereits vorbestehende, schwere kardiale Erkrankung zurückzuführen war und lediglich im Rahmen der septischen Reaktion eine Aggravation zeigte, oder vielmehr bedingt durch die schwere Sepsis mit Mikrothrombenwirkung, im Sinne eines septischen Organversagens, klinisch evident wurde. Vermutlich ist die Genese nicht monokausal, sondern vielmehr ausgelöst durch verschiedene Faktoren.

Tatsache bleibt, dass ein hohes NT-proBNP als Zeichen einer schweren kardialen Insuffizienz auch mit einer hohen Letalität einherging.

10 Zusammenfassung

Die Studie mit dem Titel „Perioperatives Immuno-Monitoring von Patienten mit operationspflichtiger intraabdomineller Infektion mit dem EAA-Endotoxin-Test im Vergleich zu etablierten Biomarkern“ wurde als eine Zwei-Center-Studie konzipiert, in die 30 Patienten aus dem Klinikum Augsburg, über einen Zeitraum von 18 Monaten, nach Erfüllen der Einschlusskriterien und fehlender Ausschlusskriterien, eingeschleust wurden.

Die Mehrzahl der Patienten wurde über unsere Notaufnahme mit den Symptomen eines akuten Abdomens akquiriert. Nur wenige stellten postoperative Komplikationen dar.

Am Aufnahmetag erfolgte neben der Endotoxinbestimmung die Erfassung aller für die Studie relevanten Daten. Zur Erfassung des Endotoxinwertes wurde den Patienten täglich 20 ml EDTA-Blut abgenommen. Alle klinischen, physiologischen und laborchemischen Parameter wurden im Rahmen der Intensivüberwachung erfasst und für die Studie übernommen.

Von den 30 Patienten waren 20 Männer und 10 Frauen. Der jüngste Patient war 43 Jahre alt, der älteste 89 Jahre; das Durchschnittsalter lag bei 73 Jahren. Die weiblichen Patienten waren im Durchschnitt mit 80 Jahren älter als die männlichen Patienten, die im Durchschnitt 69 Jahre alt waren.

Der kürzeste Aufenthalt auf der Intensivstation betrug einen Tag, die längste Behandlung musste 55 Tage fortgeführt werden. Durchschnittlich wurden die Patienten 21 Tage intensivmedizinisch behandelt.

17 (57%) von 30 Patienten zeigten im EAA™ eine hohe Endotoxinaktivität; 8 (27%) Patienten hatten einen mittleren Wert, 5 (17%) Patienten wiesen niedrigere Werte auf.

Von den 30 behandelten Patienten verstarben 10, was einer Gesamtlethalität von 33% entspricht. Die Letalität war, sowohl in der Gruppe mit hohen als auch in der mit mittleren Endotoxinwerten mit 7 (41%) respektive 3 Todesfällen (37,5%) relativ hoch und entsprach den in der Literatur beschriebenen Letalitätsraten von kritisch Kranken mit schwerer Sepsis bzw. septischem Schock [18]. Dagegen gab es keine Todesfälle in der Gruppe mit niedriger Endotoxinaktivität.

Ziel dieser Arbeit war es folgende Fragen zu beantworten:

1. Wie ist die prognostische Relevanz der Endotoxinmessung bei Patienten mit intraabdominellem Infektionsherd?
2. Welche Bedeutung hat der EAA zur Erfolgskontrolle einer operativen oder antimikrobiellen Therapie?
3. Ist der EAA als Meßparameter innerhalb des Mannheimer Peritonitis Index potentiell geeignet?

Sowohl die Frage nach der prognostischen Relevanz der EAA-Messung, als auch die nach dessen Bedeutung in der Erfolgskontrolle einer operativen oder antimikrobiellen Therapie ist positiv zu beantworten. Dagegen ist die Fragestellung nach dessen Eignung als zusätzlicher Marker innerhalb des Mannheimer Peritonitis Indexes mit „Nein“ zu beantworten.

Die Methode, mit der die Daten in Abhängigkeit ihrer Endotoxinkonzentrationen (low, mid, high) untersucht wurden, erbrachte keine wegweisenden Erkenntnisse. Zur besseren Einschätzung ihrer Eignung als Surrogatmarker für die Letalität wurden sie in zwei Gruppen „Survivor“ und „Nonsurvivor“ eingeteilt.

In der Gruppe der „Nonsurvivor“ waren dabei die interessanteren Beobachtungen zu verzeichnen, so dass hinsichtlich der Parameter-Dynamik, die Marker sich in zwei Gruppen einteilen ließen:

Die erste Gruppe zeigte postoperativ, also nach der Fokussanierung, einen deutlichen Rückgang, die zweite wiederum, trotz der Beseitigung des Infektherdes, einen Anstieg.

1. Postoperativen Rückgang zeigten:

- EAA, IL-6, PCT

2. Postoperativen Anstieg zeigten:

- LBP, Neopterin, Laktat, HMGB-1, NT-proBNP, Cholesterin

Die Untersuchung dieser Parameter lässt vermuten, dass sich durch stringente Analyse der Marker-Dynamik möglicherweise ein (Marker-) Score entwickeln ließe, der mit hoher Sicherheit die Letalitätsrate prognostizieren könnte. Zumindest könnte er, ergänzend zu derzeit auf Intensivstationen eingesetzten Verfahren, die Entscheidungsfindung unterstützen.

Wie bereits eingangs erwähnt, wurde der Stellenwert des IL-6 zur Feststellung der schweren Sepsis und des septischen Schocks kritisch in Frage gestellt. Die Kritik beruht jedoch darauf, dass einzelne Parameter mit anderen lediglich in Bezug auf ihrer Sensibilität und Spezifität gemessen wurden, unabhängig vom Zusammenspiel der einzelnen Parameter sowie ihrer Interaktion, wie sie sich in ihrer immunologischen Wirkung gegenseitig beeinflussen.

Die Datenlage suggeriert jedoch vielmehr, dass es unabdingbar ist, jeden Biomarker, innerhalb der immunologischen Kaskade bezüglich seines zeitlichen Auftretens, seiner Quantität sowie seiner Funktion genau zu evaluieren, um seine Wertigkeit auf dieser Grundlage und somit im Gefüge mit anderen Markern einstufen zu können.

Nicht zu unterschätzen ist auch, dass die adaptive immunologische Wirtsantwort nicht nur vom Erregerspektrum und Infektfokus, sondern auch von epigenetischen Faktoren abhängig ist. Somit ist die Sezernierung der Biomarker bedingt durch epigenetische Informationen sowohl zeitlich als auch quantitativ beeinflussbar. Vor dem Hintergrund jedoch, dass ein Großteil der Pathogen-Host-Interaktionen im Wirtsorganismus bisher nur unzureichend erforscht ist, bleibt die optimale Therapieplanung bzw. Strategiefestlegung im klinischen Alltag eine große Herausforderung. Hier bedarf es eines besseren Verständnisses sowohl der Interaktion zwischen dem pathogenen Erreger und der resultierenden immunologischen Antwort als auch der immunomodulatorischen Mechanismen über Aktivierung von bestimmten Genen, die dann z.B. die Sekretion von Biomarkern steuern. Erst dann kann, auf der Basis der individuellen Epigenetik und der sich daraus ergebenden Suszeptibilität für die Entstehung einer schweren Sepsis, die Entwicklung sowohl von patientenadaptierten als auch von kausalen, erregerspezifischen Therapien möglich sein.

11 Eidesstattliche Versicherung

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

„Perioperatives Immuno-Monitoring von Patienten mit operationspflichtiger intraabdomineller Infektion mittels EAA-Endotoxin-Test im Vergleich zu etablierten Biomarkern“

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen, keiner weiteren (unzulässigen) Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

Augsburg, 04.06.2019

Osman Erez

12 Tabellen über Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman

12.1 Korrelation im Beobachtungszeitraum von 6 Tagen

12.1.1 Tag 0

n=30																
Tag 0																
	Bilirubin	Temperatur	CRP	Leukos	Endotoxin	Laktat	LBP	HMGB-1	IL-6	NT-pro BNP	PCT	Neopterin	Cholesterin	APACHE II prä-OP	MPI prä-OP	
Copestin	0,38 0,0663 24	-0,211 0,267 27	0,178 0,38 26	0,0431 0,821 29	0,279 0,158 27	0,68 0,00005 23	0,254 0,181 28	0,537 0,00279 29	0,604 0,00005 29	0,252 0,186 29	0,409 0,0278 29	0,462 0,012 29	0,296 0,115 29	0,367 0,05000 29	0,266 0,16 29	
Bilirubin		0,239 0,28 22	0,013 0,952 22	-0,16 0,451 24	0,1 0,643 23	0,523 0,0105 23	0,000435 0,995 24	0,112 0,597 24	0,479 0,01800 24	0,1810 0,393 24	0,369 0,0746 24	0,19 0,371 24	0,377 0,0683 24	-0,0863 0,685 24	-0,157 0,458 24	
Temperatur			-0,059 0,775 25	-0,432 0,02450 27	0,152 0,463 25	0,17 0,403 26	0,032 0,873 27	0,11 0,582 27	0,161 0,418 27	0,0446 0,823 27	0,396 0,041 27	-0,0089 0,962 27	0,223 0,261 27	0,0905 0,651 27	-0,329 0,0927 27	
CRP				-0,186 0,349 27	0,346 0,0828 26	-0,117 0,567 26	-0,0308 0,875 27	0,25 0,207 27	0,143 0,473 27	0,462 0,0154 27	0,165 0,408 27	0,335 0,0872 27	0,21 0,29 27	-0,146 0,464 27	-0,00794 0,967 27	
Leukos					-0,153 0,433 28	-0,0245 0,897 29	-0,0946 0,616 30	0,0111 0,951 30	-0,156 0,409 30	0,0178 0,923 30	-0,397 0,0299 30	-0,034 0,856 30	-0,197 0,294 30	0,178 0,344 30	0,233 0,213 30	
Endotoxin						0,238 0,229 27	0,591 0,000991 28	0,282 0,144 28	0,484 0,00933 28	0,284 0,415 28	0,159 0,436 28	0,152 0,788 28	0,0528 0,788 28	-0,0245 0,899 28	-0,25 0,198 28	
Laktat							0,102 0,595 29	0,532 0,00313 29	0,612 0,00043 29	0,161 0,402 29	0,480 0,00968 29	0,293 0,122 29	0,372 0,04680 29	0,399 0,03210 29	-0,355 0,0583 29	
LBP								0,0817 0,665 30	0,506 0,00448 30	-0,00467 0,979 30	0,257 0,169 30	0,0454 0,809 30	0,161 0,391 30	0,0721 0,702 30	-0,253 0,176 30	
HMGB-1									0,454 0,01200 30	0,228 0,223 30	0,409 0,02490 30	0,386 0,03540 30	0,334 0,0712 30	0,34 0,0659 30	-0,333 0,0716 30	
IL-6										0,228 0,222 30	0,599 0,000504 30	0,307 0,0983 30	0,44 0,01510 30	0,309 0,0958 30	-0,412 0,02380 30	
NT-pro BNP											0,0954 0,613 30	0,776 0,00000 30	0,541 0,00215 30	0,419 0,02140 30	-0,102 0,59 30	
PCT												0,441 0,01500 30	0,613 0,00033 30	0,37 0,04380 30	-0,705 0,00000 30	
Neopterin													0,725 0,00000 30	0,508 0,00438 30	-0,372 0,04380 30	
Cholesterin														-0,307 0,0988 30	-0,485 0,0068 30	
APACHE II prä-OP	rs: Spearman correlation coefficient. p: Level of statistical significance. n: number of samples. Significant correlations are highlighted.															0,467 0,00946 30

Abbildung 72: Korrelation einzelner Parameter am Tag 0

12.1.2 Tag 1

Tag 1													
	Neopterin	PCT	NT-pro BNP	IL-6	HMGB-1	LBP	Laktat	Endotoxin	Leukos	CRP	Temperatur	Bilirubin	Copeptin
Chol	-0,324	-0,508	-0,0819	-0,34	-0,28	-0,187	-0,252	-0,114	0,0108	0,0214	-0,359	-0,137	-0,197
	0,0119	0,000041	0,532	0,0081	0,0304	0,152	0,0592	0,395	0,934	0,875	0,00634	0,368	0,135
	60	60	60	60	60	60	57	58	60	56	57	45	59
Neopterin		0,463	0,774	0,291	0,404	0,114	0,356	0,179	0,176	0,2430	0,0634	0,291	0,513
		0,000222	0,00000	0,0244	0,00145	0,386	0,00676	0,177	0,179	0,0711	0,638	0,0523	0,0000385
		60	60	60	60	60	57	58	60	56	57	45	59
PCT			0,149	0,547	0,435	0,225	0,476	0,256	-0,0764	0,259	0,307	0,458	0,37
			0,255	0,00001	0,000563	0,0843	0,000204	0,0523	0,56	0,0538	0,0206	0,00166	0,00407
			60	60	60	60	57	58	60	56	57	45	59
NT-pro BNP				0,223	0,317	0,128	0,281	0,212	0,247	0,33	0,0616	0,252	0,359
				0,0864	0,0139	0,327	0,0344	0,11	0,057	0,0133	0,648	0,0943	0,00546
				60	60	60	57	58	60	56	57	45	59
IL-6					0,533	0,301	0,622	0,478	0,0895	0,227	0,184	0,526	0,607
					0,0000141	0,0198	0,00000	0,00017	0,495	0,0928	0,17	0,00023	0,00000
					60	60	57	58	60	56	57	45	59
HMGB-1						0,217	0,637	0,418	0,227	0,333	0,046	0,253	0,482
						0,0959	0,00000	0,00116	0,0811	0,0123	0,733	0,0927	0,00013
						60	57	58	60	56	57	45	59
LBP							0,0718	0,286	-0,0203	0,322	0,224	0,127	0,0997
							0,595	0,0298	0,877	0,0157	0,094	0,402	0,451
							57	58	60	56	57	45	59
Laktat								0,388	0,293	0,0579	0,101	0,42	0,642
								0,00362	0,0271	0,679	0,465	0,00526	0,00000
								55	57	53	54	43	56
Endotoxin									-0,0689	0,294	0,137	0,268	0,277
									0,606	0,0294	0,318	0,0786	0,0368
									58	55	55	44	57
Leukos										-0,0795	-0,194	-0,0506	0,218
										0,559	0,148	0,74	0,0968
										56	57	45	59
CRP											-0,0205	0,132	0,147
											0,883	0,401	0,284
											54	42	55
Temperatur												0,177	-0,0541
												0,253	0,689
												43	57
Bilirubin	r _s : Spearman correlation coefficient.												0,368
	p: Level of statistical significance.												0,0131
	n: number of samples.												
	Significant correlations are highlighted.												45

Abbildung 73: Korrelation einzelner Parameter am Tag 1

12.1.3 Tag 2

Tag 2													
	Neopterin	PCT	NT-pro BNP	IL-6	HMGB-1	LBP	Laktat	Endotoxin	Leukos	CRP	Temperatur	Bilirubin	Copeptin
Chol	-0,352 0,00996 53	-0,478 0,00033 53	-0,0293 0,834 53	-0,323 0,0184 53	-0,253 0,0672 53	-0,161 0,249 53	-0,336 0,0174 50	-0,0579 0,685 51	0,019 0,892 53	0,0368 0,799 50	-0,155 0,302 46	-0,0787 0,651 35	-0,285 0,041 52
Neopterin		0,464 0,000506 53	0,741 0,00000 53	0,314 0,0221 53	0,293 0,03320 53	0,112 0,423 53	0,317 0,0251 50	0,0715 0,617 51	0,157 0,261 53	0,2870 0,0437 50	-0,171 0,254 46	0,273 0,112 35	0,484 0,000314 52
PCT			0,137 0,327 53	0,472 0,00040 53	0,302 0,0281 53	0,342 0,0123 53	0,334 0,018 50	0,18 0,205 51	-0,19 0,172 53	0,226 0,115 50	0,184 0,22 46	0,445 0,00766 35	0,413 0,00248 52
NT-pro BNP				0,168 0,229 53	0,0963 0,491 53	0,0609 0,663 53	0,141 0,327 50	0,172 0,228 51	0,158 0,257 53	0,271 0,057 50	-0,121 0,421 46	0,188 0,277 35	0,336 0,0151 52
IL-6					0,368 0,00687 53	0,148 0,288 53	0,608 0,00000 50	0,506 0,000173 51	-0,143 0,307 53	0,12 0,404 50	-0,0704 0,64 46	0,629 0,00005 35	0,511 0,000122 52
HMGB-1						0,077 0,582 53	0,41 0,00326 50	0,261 0,0645 51	0,0888 0,526 53	0,232 0,105 50	-0,205 0,171 46	0,171 0,324 35	0,372 0,00676 52
LBP							-0,04 0,782 50	0,204 0,779 51	0,0394 0,192 53	0,187 0,255 50	0,171 0,255 46	0,021 0,903 35	0,0654 0,644 52
Laktat							0,304 0,0336 49	0,0111 0,937 53	-0,095 0,514 49	-0,00348 0,981 48		0,515 0,00197 34	0,509 0,000213 49
Endotoxin									-0,173 0,219 52	0,194 0,177 50	0,0831 0,586 45	0,367 0,033 34	0,164 0,253 50
Leukos										-0,0312 0,826 52	-0,377 0,00774 49	-0,2 0,24 36	0,112 0,427 52
CRP											0,0709 0,638 46	0,0288 0,872 33	0,204 0,158 49
Temperatur												0,126 0,49 32	-0,266 0,0734 46
Bilirubin													0,396 0,0188 35
	r _s : Spearman correlation coefficient. p: Level of statistical significance. n: number of samples. Significant correlations are highlighted.												

Abbildung 74: Korrelation einzelner Parameter am Tag 2

12.1.4 Tag 3

Tag 3													
	Neopterin	PCT	NT-pro BNP	IL-6	HMGB-1	LBP	Laktat	Endotoxin	Leukos	CRP	Temperatur	Bilirubin	Copeptin
Chol	-0,367	-0,566	0,000679	-0,451	-0,364	-0,183	-0,388	-0,223	0,0975	0,00219	-0,11	-0,0759	-0,266
	0,0124	0,0000481	0,996	0,00176	0,0133	0,223	0,00873	0,144	0,517	0,988	0,492	0,677	0,0772
	46	46	46	46	46	46	45	44	46	43	41	32	45
Neopterin		0,475	0,727	0,308	0,283	0,0155	0,314	0,272	0,207	0,364	-0,061	0,123	0,469
		0,000918	0,00000	0,0373	0,057	0,918	0,0357	0,0743	0,168	0,0165	0,703	0,498	0,00125
		46	46	46	46	46	45	44	46	43	41	32	45
PCT				0,564	0,269	0,259	0,434	0,271	-0,233	0,254	0,198	0,391	0,479
			0,179	0,0000505	0,0706	0,0817	0,00306	0,0749	0,118	0,0996	0,213	0,0272	0,00094
			46	46	46	46	45	44	46	43	41	32	45
NT-pro BNP				0,133	0,0722	0,0402	0,00752	0,252	0,168	0,437	-0,0186	0,217	0,264
				0,377	0,632	0,79	0,96	0,0987	0,262	0,00357	0,907	0,23	0,0797
				46	46	46	45	44	46	43	41	32	45
IL-6					0,453	0,295	0,663	0,604	-0,0937	0,187	-0,0355	0,581	0,511
					0,00166	0,0466	0,00000	0,00002	0,534	0,229	0,824	0,000522	0,000376
					46	46	45	44	46	43	41	32	45
HMGB-1						-0,0242	0,422	0,246	0,0295	0,0569	-0,186	0,0424	0,408
						0,872	0,00405	0,108	0,845	0,715	0,242	0,815	0,00562
						46	45	44	46	43	41	32	45
LBP							0,0036	0,368	0,0234	0,138	0,257	0,0769	0,132
							0,981	0,0142	0,877	0,375	0,105	0,673	0,385
							45	44	46	43	41	32	45
Laktat							0,436	0,0546	-0,0785	0,107	0,468	0,504	
							0,00361	0,708	0,602	0,486	0,00718	0,000537	
							43	49	46	44	32	44	
Endotoxin								-0,0438	0,301	0,0228	0,329	0,343	
								0,776	0,0526	0,889	0,0706	0,0245	
								44	42	39	31	43	
Leukos									-0,054	-0,155	-0,232	0,0987	
									0,717	0,309	0,192	0,517	
									47	45	33	45	
CRP										0,0955	0,164	0,158	
										0,541	0,376	0,315	
										43	31	42	
Temperatur												0,0908	-0,361
												0,63	0,0207
												30	41
Bilirubin	r _s : Spearman correlation coefficient.												
	p: Level of statistical significance.												
	n: number of samples.												
	Significant correlations are highlighted.												
													0,304
													0,0898
													32

Abbildung 75: Korrelation einzelner Parameter am Tag 3

12.1.5 Tag 4

Tag 4													
	Neopterin	PCT	NT-pro BNP	IL-6	HMGB-1	LBP	Laktat	Endotoxin	Leukos	CRP	Temperatur	Bilirubin	Copeptin
Chol	-0,282 0,0638 44	-0,612 0,00001 44	0,0399 0,796 44	-0,481 0,00104 44	-0,377 0,0118 44	-0,252 0,0979 44	-0,319 0,0424 41	-0,224 0,158 41	0,166 0,28 44	-0,0567 0,727 40	-0,196 0,237 38	-0,0734 0,702 29	-0,26 0,0918 43
Neopterin		0,474 0,00124 44	0,72 0,00000 44	0,292 0,0544 44	0,251 0,0992 44	0,07 0,65 44	0,149 0,349 41	0,223 0,159 41	0,0715 0,643 44	0,278 0,0816 40	0,0107 0,948 38	0,0811 0,672 29	0,520 0,000392 43
PCT			0,127 0,411 44	0,636 0,00000 44	0,431 0,00366 44	0,232 0,129 44	0,386 0,0128 41	0,248 0,117 41	-0,286 0,0602 44	0,188 0,242 40	0,152 0,361 38	0,321 0,0885 29	0,552 0,000142 43
NT-pro BNP				0,109 0,481 44	0,139 0,366 44	0,0378 0,807 44	0,032 0,841 41	0,22 0,165 41	0,134 0,384 44	0,324 0,0412 40	0,0248 0,881 38	0,129 0,5 29	0,24 0,121 43
IL-6					0,537 0,000194 44	0,325 0,0313 44	0,495 0,00108 41	0,541 0,000288 41	-0,107 0,487 44	0,261 0,104 40	-0,112 0,5 38	0,415 0,0252 29	0,578 0,0000564 43
HMGB-1						0,0588 0,703 44	0,363 0,0201 41	0,209 0,188 41	0,000141 0,999 44	0,191 0,237 40	-0,186 0,261 38	0,0476 0,803 29	0,491 0,000893 43
LBP							-0,158 0,322 41	0,265 0,0934 41	0,0233 0,88 44	0,165 0,306 40	0,199 0,228 38	-0,116 0,547 29	0,0392 0,801 43
Laktat								0,385 0,0172 38	-0,0667 0,669 43	-0,182 0,266 39	-0,0345 0,833 39	0,489 0,00731 29	0,586 0,0000795 40
Endotoxin									-0,0506 0,752 41	0,236 0,153 38	0,063 0,713 36	0,12 0,538 28	0,407 0,00948 40
Leukos										-0,169 0,284 42	-0,158 0,328 40	-0,275 0,134 31	0,0375 0,81 43
CRP											0,0954 0,572 37	-0,0103 0,956 29	0,0824 0,616 39
Temperatur												0,123 0,531 28	-0,312 0,0565 38
Bilirubin	r _s : Spearman correlation coefficient. p: Level of statistical significance. n: number of samples. Significant correlations are highlighted.												
													0,281 0,139 29

Abbildung 76: Korrelation einzelner Parameter am Tag 4

12.1.6 Tag 5

Tag 5													
	Neopterin	PCT	NT-pro BNP	IL-6	HMGB-1	LBP	Laktat	Endotoxin	Leukos	CRP	Temperatur	Bilirubin	Copeptin
Chol	-0,289 0,0667 41	-0,675 0,00000 41	-0,0274 0,863 41	-0,451 0,00324 41	-0,429 0,00535 41	-0,224 0,158 41	-0,422 0,00768 39	-0,192 0,239 39	0,199 0,211 41	-0,0734 0,659 38	-0,128 0,455 36	-0,163 0,411 27	-0,325 0,0411 40
Neopterin		0,438 0,00441 41	0,743 0,00000 41	0,269 0,0891 41	0,201 0,206 41	0,106 0,508 41	0,185 0,258 39	0,155 0,346 39	0,114 0,475 41	0,288 0,0795 38	0,092 0,592 36	0,205 0,301 27	0,451 0,00364 40
PCT			0,174 0,274 41	0,699 0,00000 41	0,443 0,00389 41	0,277 0,0795 41	0,463 0,00318 39	0,373 0,0196 39	-0,252 0,111 41	0,202 0,223 38	0,28 0,0968 36	0,435 0,0234 27	0,573 0,000125 40
NT-pro BNP				0,182 0,253 41	0,0955 0,551 41	0,104 0,515 41	0,154 0,348 39	0,231 0,157 39	0,112 0,484 41	0,326 0,0458 38	0,101 0,556 36	0,185 0,352 27	0,227 0,159 40
IL-6					0,518 0,000576 41	0,336 0,032 41	0,541 0,00042 39	0,621 0,00003 39	-0,148 0,354 41	0,226 0,171 38	0,0583 0,734 36	0,553 0,0029 27	0,643 0,00001 40
HMGB-1						0,0367 0,818 41	0,391 0,0141 39	0,342 0,033 39	-0,00113 0,994 41	0,2 0,228 38	-0,0786 0,647 36	0,241 0,223 27	0,467 0,00253 40
LBP							0,0481 0,769 39	0,394 0,0134 39	0,0192 0,904 41	0,136 0,412 38	-0,0191 0,911 36	0,104 0,603 27	0,164 0,309 40
Laktat								0,182 0,28 37	-0,0102 0,95 39	-0,154 0,367 36	0,0229 0,895 35	0,522 0,0077 25	0,581 0,000142 38
Endotoxin									-0,161 0,325 39	0,325 0,0498 37	0,17 0,333 34	0,227 0,262 26	0,398 0,0137 38
Leukos										-0,209 0,206 38	-0,302 0,0734 36	-0,135 0,498 27	0,1 0,536 40
CRP											-0,0473 0,789 34	0,0466 0,821 25	0,104 0,537 37
Temperatur												0,273 0,205 23	-0,157 0,358 36
Bilirubin	r _s : Spearman correlation coefficient. p: Level of statistical significance. n: number of samples. Significant correlations are highlighted.												0,439 0,0221 27

Abbildung 77: Korrelation einzelner Parameter am Tag 5

12.2 Korrelation in den Subgruppen Survivor und Nonsurvivor

12.2.1 Korrelation in der Subgruppe der überlebenden Patienten

	Neopterin	PCT	NT-pro BNP	IL-6	HMGB-1	LBP	Laktat	Endotoxin	Leukos	CRP	Temperatur	Bilirubin	Copeptin	
Chol	-0,285	-0,299	-0,069	-0,562	-0,278	-0,248	-0,385	-0,0864	-0,186	-0,165	0,0641	-0,432	-0,368	
	0,0102	0,0081	0,54	0,0000	0,0120	0,0256	0,0008	0,451	0,101	0,152	0,605	0,0040	0,0008	
	81	78	81	81	81	81	73	78	79	77	67	43	81	
Neopterin		0,202	0,667	0,314	0,0847	0,188	0,356	0,161	0,399	0,225	0,29	0,382	0,563	
		0,0768	0,0000	0,0044	0,451	0,0934	0,0021	0,158	0,0003	0,0496	0,0175	0,0118	0,0000	
		78	81	81	81	81	73	78	79	77	67	43	81	
PCT			-0,0258	0,568	0,321	0,343	0,326	0,0308	-0,0825	0,313	0,271	0,603	0,416	
			0,822	0,0000	0,0043	0,0022	0,0060	0,793	0,478	0,0067	0,0268	0,0000	0,0002	
			78	78	78	78	70	75	76	74	67	40	78	
NT-pro BNP				0,0203	0,159	0,0273	0,213	0,0203	0,467	-0,0561	0,166	-0,000453	0,277	
				0,857	0,156	0,808	0,0703	0,86	0,0000	0,627	0,179	0,997	0,0126	
				81	81	81	73	78	79	77	67	43	81	
IL-6					0,353	0,427	0,473	0,266	0,0329	0,473	-0,123	0,827	0,527	
					0,0013	0,0001	0,0000	0,0188	0,773	0,0000	0,319	0,0000	0,0000	
					81	81	73	78	79	77	67	43	81	
HMGB-1						0,193	0,127	0,0186	0,217	0,316	-0,288	0,231	0,336	
						0,0842	0,285	0,871	0,0549	0,0052	0,0184	0,136	0,0023	
						81	73	78	79	77	67	43	81	
LBP							0,0365	-0,0128	0,0464	0,564	0,118	0,427	0,0476	
							0,758	0,911	0,684	0,0000	0,34	0,0045	0,672	
							73	78	79	77	67	43	81	
Laktat								0,229	0,268	-0,067	-0,0511	0,52	0,477	
								0,053	0,0151	0,554	0,663	0,0005	0,0000	
								72	82	80	75	42	73	
Endotoxin									-0,119	0,162	0,156	0,292	0,101	
									0,296	0,156	0,207	0,0548	0,376	
									79	78	67	44	78	
Leukos										-0,0453	-0,0688	0,0303	0,2	
										0,676	0,554	0,841	0,0774	
										87	76	46	79	
CRP											-0,0585	0,423	0,231	
											0,617	0,0036	0,0438	
											75	46	77	
Temperatur	rs: Spearman correlation coefficient. p: Level of statistical significance. n: number of samples. Significant correlations are highlighted.												0,213	-0,168
													0,198	0,174
													38	67
Bilirubin													0,511	
													0,0005	
													43	

Abbildung 78: Korrelation der Parameter in der Subgruppe der Survivor

12.2.2 Korrelation in der Subgruppe der verstorbenen Patienten

	Neopterin	PCT	NT-pro BNP	IL-6	HMGB-1	LBP	Laktat	Endotoxin	Leukos	CRP	Temperatur	Bilirubin	Copeptin	
Chol	-0,214	-0,684	-0,0549	-0,459	-0,424	-0,158	-0,382	-0,229	0,255	-0,0484	-0,0937	-0,189	-0,175	
	0,116	0,0000	0,689	0,0005	0,0013	0,247	0,0046	0,0983	0,0599	0,735	0,507	0,26	0,205	
	55	55	55	55	55	55	54	53	55	51	52	37	54	
Neopterin		0,175	0,734	0,0339	0,155	0,12	0,174	0,181	0,147	0,165	0,0363	0,257	0,151	
		0,201	0,0000	0,805	0,258	0,381	0,208	0,193	0,284	0,247	0,797	0,124	0,274	
		55	55	55	55	55	54	53	55	51	52	37	54	
PCT			0,113	0,52	0,4	0,201	0,357	0,133	-0,36	0,304	0,227	0,437	0,435	
			0,409	0,0001	0,0026	0,14	0,0082	0,339	0,0071	0,0306	0,106	0,0071	0,0011	
			55	55	55	55	54	53	55	51	52	37	54	
NT-pro BNP				-0,033	-0,0742	0,17	-0,0144	0,118	0,0713	0,322	0,0951	0,209	0,19	
				0,81	0,589	0,213	0,917	0,398	0,604	0,0216	0,501	0,213	0,167	
				55	55	55	54	53	55	51	52	37	54	
IL-6					0,552	0,181	0,586	0,539	-0,215	0,103	0,0337	0,35	0,422	
					0,0000	0,184	0,0000	0,0000	0,115	0,469	0,812	0,0340	0,0016	
					55	55	54	53	55	51	52	37	54	
HMGB-1						-0,126	0,661	0,295	-0,176	0,17	-0,124	0,3	0,347	
						0,36	0,0000	0,0319	0,199	0,23	0,379	0,0711	0,0103	
						55	54	53	55	51	52	37	54	
LBP							-0,0605	0,321	0,19	0,207	0,296	0,0166	0,0988	
							0,663	0,0193	0,164	0,144	0,0333	0,921	0,476	
							54	53	55	51	52	37	54	
Laktat								0,346	-0,136	-0,0213	0,0474	0,572	0,302	
								0,0122	0,322	0,882	0,738	0,0002	0,0281	
								52	55	50	52	37	53	
Endotoxin									-0,07	0,0875	0,136	0,122	0,092	
									0,617	0,544	0,346	0,476	0,515	
									53	50	50	36	52	
Leukos										0,0115	-0,104	-0,358	-0,0928	
										0,936	0,456	0,0274	0,503	
										51	53	38	54	
CRP											0,0245	0,0473	0,28	
											0,866	0,785	0,0491	
											49	35	50	
Temperatur	rs: Spearman correlation coefficient.												0,198	-0,223
	p: Level of statistical significance.												0,244	0,112
	n: number of samples.												36	52
Bilirubin	Significant correlations are highlighted.													
													0,367	
													0,0256	
													37	

Abbildung 79: Korrelation der Parameter in der Subgruppe der verstorbenen Patienten

13 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Inzidenz der Sepsisfälle in den USA von 1979-2000 in Abhängigkeit vom Geschlecht (modifiziert nach Martin G.S.[17])	17
Abbildung 2: Erregerspektrum der Sepsis in den USA (modifiziert nach Martin G.S.[17]) ...	18
Abbildung 3: Strukturformel von Endotoxin [24].....	20
Abbildung 4: Typischer biphasischer Verlauf der Sepsis [30]	23
Abbildung 5: Biphasischer Verlauf der Sepsis mit idealisiertem Verlauf (gestrichelte Linie) und individueller Verläufe (durchgezogene Linien) (Modifiziert nach Körner [35])	24
Abbildung 6: Verlauf der Sepsis nach Klassifikation in die spontan akquirierte Typ-A-Sepsis und in die postoperativ akquirierte Typ-B-Sepsis.(Modifiziert nach Körner [35])	24
Abbildung 7: Initiation der Immunantwort durch das Zusammenwirken von endogenen Alarminen und exogenen PAMP`s, die als sog. DAMP`s vom Mustererkennungsrezeptoren auf Immunzellen, den sog. PRR`s erkannt werden und eine inflammatorische Reaktion auslösen (nach Vollmar [28, 37]).	26
Abbildung 8: Darstellung der intra- und extrazellulär gelegenen Mustererkennungsrezeptoren (PRRs) und deren Liganden (PAMPs), (Modifiziert nach Hauber [37]).....	27
Abbildung 9: Klassifikation der Sepsis in Typ A, spontan akquiriert, und in Typ B, postoperativ erworben nach Maier et al. [30, 35]	28
Abbildung 10: Postoperative Reduktion der HLA-DR Expression auf der Oberfläche der Monozyten nach Körner et al. [35]	29
Abbildung 11: Apoptose zirkulierender T Lymphozyten 24 h nach einem chirurgischen Eingriff [35]	30
Abbildung 12: Immunhistochemische Bilder von Dendritischen Zellen (Abbildungen oben, x 600) sowie von CD4 positiven T- Helfer Zellen (Abbildungen unten, x 600) in der Milz von traumatisch (Abb. A und C) und an der Sepsis (Abb. B und D) verstorbenen Patienten [23].	31
Abbildung 13: A. Kumar et al. [120].....	42
Abbildung 14: Beobachtungszeitraum	46
Abbildung 15: Testprinzip des Endotoxin-Aktivitätsassays (EAA TM)	48
Abbildung 16: Reaktionsröhrchen zur Durchführung des EAA	49
Abbildung 17: Kreisschüttler Inkubator.....	50
Abbildung 18: Pipettierschema	52
Abbildung 19: Luminometer, Firma Berthold, Smart Line TL	53

Abbildung 20b: Praktische Versuchsanordnung im Labor.....	53
Abbildung 21: Probe mit einer hohen Endotoxinaktivität, Firma Spectral Diagnostics Inc.....	55
Abbildung 22: Probe mit einer niedrigen Endotoxinaktivität, Firma Spectral Diagnostics Inc.....	55
Abbildung 23: EAA™ Werte bei gesunden Probanden [129]	57
Abbildung 24: Demographische Patientendaten der MEDIC Studie [129]	58
Abbildung 25: Endotoxinaktivität der Patienten der MEDIC Studie am Aufnahmetag auf die ICU [129]	59
Abbildung 26: Höhe der Endotoxinaktivität mit entsprechendem Risikoprofil eine schwerer Sepsis zu entwickeln, MEDIC Studie, [129].	59
Abbildung 27: Quotenverhältnis (Odds ratio) für die Entwicklung einer schweren Sepsis in Abhängigkeit der Höhe der Endotoxinaktivität; NS = nicht signifikant, MEDIC Studie, [129]	60
Abbildung 28: APACHE II Schweregradklassifikationssystem, modifiziert nach W.A. Knaus [130].....	62
Abbildung 29: Chronic Health Score, nach W.A. Knaus [130].....	63
Abbildung 30: Sterbewahrscheinlichkeit, nach W.A. Knaus [130]	63
Abbildung 31: Patientenübersicht, Scores und Kennzahlen (APACHE II Score= Acute Physiology and Chronic Health Evaluation Score II; NA = Notfallaufnahme; elektiv = elektiver Eingriff mit postoperativer Komplikation; KH = Dauer des Krankenhausaufenthalts in Tagen; Int = Dauer der Intensivtherapie in Tagen; 30 d L. = 30 Tage Letalität; 60 d L. = 60 Tage Letalität).....	65
Abbildung 32: Anteil Männer und Frauen.....	66
Abbildung 33: Endotoxinaktivität.....	67
Abbildung 34: Letalitätsrate in drei Subgruppen	67
Abbildung 35: ROC Kurve für das Cholesterin.....	69
Abbildung 36: ROC Kurve für das Neopterin.....	70
Abbildung 37: ROC Kurve für das Procalcitonin	71
Abbildung 38: ROC Kurve für das BNP.....	72
Abbildung 39: ROC Kurve für das IL-6.....	73
Abbildung 40: ROC Kurve für das HMGB-1.....	74
Abbildung 41: ROC Kurve für das LBP	75
Abbildung 42: ROC Kurve für das Laktat.....	76

Abbildung 43: ROC Kurve für das Endotoxin	77
Abbildung 44: Vergleich der LBP-Konzentrationen zwischen den 3 Subgruppen.....	78
Abbildung 45: Vergleich der Cholesterin Konzentration zwischen den 3 Subgruppen.....	79
Abbildung 46: Vergleich der Laktat Konzentration zwischen den 3 Subgruppen.....	80
Abbildung 47: Vergleich der Neopterin-Konzentration zwischen den 3 Subgruppen	81
Abbildung 48: Korrelation von MPI mit PCT	82
Abbildung 49: Darstellung der IL-6 Konzentration; blau: survivor; rot: nonsurvivor; 1: prä-Op; 2: 1. post-Op Tag; 3: Maximalwerte	84
Abbildung 50: IL-6 Konzentration im Gesamtkollektiv über den Beobachtungszeitraum von 8 Tagen	84
Abbildung 52: Darstellung der Procalcitonin Konzentration; blau: survivor; rot: nonsurvivor; 1: prä-Op; 2: 1. post-op .Tag; 3: Maximalwerte	86
Abbildung 51: PCT Konzentration im Gesamtkollektiv über den Beobachtungszeitraum von 8 Tagen	86
Abbildung 53: Darstellung der HMGB-1 Konzentration; blau: survivor; rot: nonsurvivor; 1: prä-Op; 2: 1. post-op. Tag; 3: Maximalwerte.....	88
Abbildung 54: Darstellung der LBP Konzentration; blau: survivor; rot: nonsurvivor; 1: prä-Op; 2: 1. post-op. Tag; 3: Maximalwerte.....	90
Abbildung 55: Verlauf der Endotoxinaktivität im Gesamtkollektiv im Beobachtungszeitraum von 7 Tagen	91
Abbildung 56: Endotoxinverlauf Patientenbezogen über den Beobachtungszeitraum von 10 Tagen (survivor)	92
Abbildung 57: Endotoxinverlauf Patientenbezogen über den Beobachtungszeitraum von 7 Tagen (nonsurvivor)	92
Abbildung 58: Darstellung der Endotoxin Konzentration; blau: survivor; rot: nonsurvivor; 1: prä-Op; 2: 1. post-op. Tag; 3: Maximalwert.....	94
Abbildung 59: Darstellung der Laktat Konzentration; blau: survivor; rot: nonsurvivor; 1: prä-Op; 2: 1. post-Op Tag; 3: Maximalwert	96
Abbildung 60: Darstellung der NT-proBNP Konzentration; blau: survivor; rot: nonsurvivor; 1: prä-Op; 2: 1. post-Op Tag; 3: Maximalwert	98
Abbildung 61: NT-pro-BNP Konzentration im Gesamtkollektiv über den Beobachtungszeitraum von 8 Tagen.....	98
Abbildung 62: Darstellung der Neopterin Konzentration; blau: survivor; rot: nonsurvivor; 1: prä-Op; 2: 1. post-Op Tag; 3: Maximalwert	100

Abbildung 63: Neopterin Konzentration im Gesamtkollektiv über den Beobachtungszeitraum von 8 Tagen	100
Abbildung 64: Darstellung der Cholesterin Konzentration; blau: survivor; rot: nonsurvivor; 1: prä-Op; 2: 1. post-Op Tag; 3: Maximalwert	102
Abbildung 65: Zeitliches Zusammenspiel der Biomarker bei der Sepsis Entwicklung (stark vereinfacht)	109
Abbildung 67: Subgruppe1; abfallende Dynamik der Biomarker innerhalb der Nonsurvivor Gruppe; EAA, IL-6, PCT	114
Abbildung 68: Subgruppe 2; ansteigende Dynamik der Biomarker innerhalb der Nonsurvivor Gruppe; LBP, Neopterin, HMGB-1, Laktat, NT-proBNP.....	115
Abbildung 69: Zusammenhang zwischen Endotoxinlast, IL-6 und Neopterin im Vergleich der Subgruppen Nonsurvivor vs. Survivor	116
Abbildung 70: Sepsis als Krankheitkontinuum	118
Abbildung 71: ROC-Kurve für Laktat ohne Berücksichtigung der präoperativen Werte; (AUC von 0,576).....	121
Abbildung 72: ROC-Kurve für HMGB-1 ohne Berücksichtigung der präoperativen Werte; (AUC von 0,507).....	122
Abbildung 73: Korrelation einzelner Parameter am Tag 0	128
Abbildung 74: Korrelation einzelner Parameter am Tag 1	129
Abbildung 75: Korrelation einzelner Parameter am Tag 2	130
Abbildung 76: Korrelation einzelner Parameter am Tag 3	131
Abbildung 77: Korrelation einzelner Parameter am Tag 4	132
Abbildung 78: Korrelation einzelner Parameter am Tag 5	133
Abbildung 79: Korrelation der Parameter in der Subgruppe der Survivor	134
Abbildung 80: Korrelation der Parameter in der Subgruppe der verstorbenen Patienten....	135

14 Literaturverzeichnis

1. Kreymann, G. and M. Wolf, *[History and definition of sepsis--do we need new terminology?]*. Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther, 1996. **31**(1): p. 9-14.
2. Rietschel, E.T., et al., *Lipid A, the endotoxic center of bacterial lipopolysaccharides: relation of chemical structure to biological activity*. Prog Clin Biol Res, 1987. **231**: p. 25-53.
3. Lindenmann, J., D.C. Burke, and A. Isaacs, *Studies on the production, mode of action and properties of interferon*. Br J Exp Pathol, 1957. **38**(5): p. 551-62.
4. Isaacs, A. and J. Lindenmann, *Virus interference. I. The interferon*. Proc R Soc Lond B Biol Sci, 1957. **147**(927): p. 258-67.
5. Dumonde, D.C., *Clinical Uses of Lymphokines Workshop Summary*, in *Molecular Basis of Lymphokine Action*. 1987, Humana Press. p. 455-461.
6. Yoshida, T. and S. Cohen, *Lymphokine activity in vivo in relation to circulating monocyte levels and delayed skin reactivity*. J Immunol, 1974. **112**(4): p. 1540-7.
7. Schottmüller, H. Verhandl dt Kongress Inn Med. Vol. 31. 1914. 257-280.
8. Thomas, L., *Germs*. N Engl J Med, 1972. **287**(11): p. 553-5.
9. H. P. Schuster, U.M.-W., *Definition und Diagnose von Sepsis und Multiorganversagen*, in *Sepsis und MODS*. 2005, Springer. p. 4.
10. Bone, R.C., et al., *Sepsis syndrome: a valid clinical entity*. Methylprednisolone Severe Sepsis Study Group. Crit Care Med, 1989. **17**(5): p. 389-93.
11. Bone, R.C., et al., *Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis*. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. Chest, 1992. **101**(6): p. 1644-55.
12. Levy, M.M., et al., *2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference*. Crit Care Med, 2003. **31**(4): p. 1250-6.
13. Lever, A. and I. Mackenzie, *Sepsis: definition, epidemiology, and diagnosis*. BMJ, 2007. **335**(7625): p. 879-83.
14. Lyytikäinen, O., et al., *Nosocomial bloodstream infections in Finnish hospitals during 1999-2000*. Clin Infect Dis, 2002. **35**(2): p. e14-9.
15. Harbarth, S., et al., *Epidemiology and prognostic determinants of bloodstream infections in surgical intensive care*. Arch Surg, 2002. **137**(12): p. 1353-9; discussion 1359.
16. Angus, D.C., et al., *Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care*. Crit Care Med, 2001. **29**(7): p. 1303-10.
17. Martin, G.S., et al., *The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000*. N Engl J Med, 2003. **348**(16): p. 1546-54.
18. Engel, C., et al., *Epidemiology of sepsis in Germany: results from a national prospective multicenter study*. Intensive Care Med, 2007. **33**(4): p. 606-18.
19. Bauer, M., et al., *[Sepsis. Update on pathophysiology, diagnostics and therapy]*. Anaesthesist, 2006. **55**(8): p. 835-45.
20. Marchetti, O., et al., *Epidemiology of candidemia in Swiss tertiary care hospitals: secular trends, 1991-2000*. Clin Infect Dis, 2004. **38**(3): p. 311-20.
21. Vincent, J.L., et al., *Sepsis in European intensive care units: results of the SOAP study*. Crit Care Med, 2006. **34**(2): p. 344-53.
22. Cohen, J., *The immunopathogenesis of sepsis*. Nature, 2002. **420**(6917): p. 885-91.
23. Hotchkiss, R.S. and I.E. Karl, *The pathophysiology and treatment of sepsis*. N Engl J Med, 2003. **348**(2): p. 138-50.
24. Rensing, H., *[Endotoxins. Pathogenetic meaning of sepsis]*. Anaesthesist, 2003. **52 Suppl 1**: p. S7-S13.
25. Michie, H.R., et al., *Detection of circulating tumor necrosis factor after endotoxin administration*. N Engl J Med, 1988. **318**(23): p. 1481-6.
26. Suffredini, A.F., et al., *The cardiovascular response of normal humans to the administration of endotoxin*. N Engl J Med, 1989. **321**(5): p. 280-7.

27. Suffredini, A.F., P.C. Harpel, and J.E. Parrillo, *Promotion and subsequent inhibition of plasminogen activation after administration of intravenous endotoxin to normal subjects*. N Engl J Med, 1989. **320**(18): p. 1165-72.
28. Vollmar, B., *[Pathophysiological basis of surgery-linked sepsis]*. Chirurg, 2011. **82**(3): p. 199-207.
29. Adib-Conquy, M. and J.M. Cavaillon, *Compensatory anti-inflammatory response syndrome*. Thromb Haemost, 2009. **101**(1): p. 36-47.
30. Maier, S., et al., *[Special aspects of abdominal sepsis]*. Chirurg, 2005. **76**(9): p. 829-36.
31. Venet, F., et al., *Regulatory T cell populations in sepsis and trauma*. J Leukoc Biol, 2008. **83**(3): p. 523-35.
32. Faist, E., et al., *Depression of cellular immunity after major injury. Its association with posttraumatic complications and its reversal with immunomodulation*. Arch Surg, 1986. **121**(9): p. 1000-5.
33. Wood, J.J., et al., *Inadequate interleukin 2 production. A fundamental immunological deficiency in patients with major burns*. Ann Surg, 1984. **200**(3): p. 311-20.
34. Hensler, T., et al., *Increased susceptibility to postoperative sepsis in patients with impaired monocyte IL-12 production*. J Immunol, 1998. **161**(5): p. 2655-9.
35. Koerner, P., et al., *[Surgical trauma and postoperative immunosuppression]*. Chirurg, 2008. **79**(4): p. 290-4.
36. Bianchi, M.E., *DAMPs, PAMPs and alarmins: all we need to know about danger*. J Leukoc Biol, 2007. **81**(1): p. 1-5.
37. Hauber, H.P. and P. Zabel, *[Pathophysiology and pathogens of sepsis]*. Internist (Berl), 2009. **50**(7): p. 779-80, 782-4, 786-7.
38. Tracy, A.L., et al., *Regulation of Energy Intake in Humans*. 2000.
39. Romanova, I.V. and A.L. Mikhryna, *[Participation of Agouti related peptide in mechanisms of wakefulness-sleep cycle regulation]*. Fiziol Cheloveka, 2013. **39**(6): p. 24-30.
40. Cornelius, C., et al., *Hormesis and vitagenes in aging and longevity: mitochondrial control and hormonal regulation*. Horm Mol Biol Clin Investig, 2013. **16**(2): p. 73-89.
41. Franchitto, A., et al., *Recent advances on the mechanisms regulating cholangiocyte proliferation and the significance of the neuroendocrine regulation of cholangiocyte pathophysiology*. Ann Transl Med, 2013. **1**(3): p. 27.
42. Jin, H.J., J. Kim, and J. Yu, *Androgen receptor genomic regulation*. Transl Androl Urol, 2013. **2**(3): p. 157-177.
43. Moni, S.S., M.M. Safhi, and B.B. Barik, *Nanoparticles for triggering and regulation of immune response of vaccines: perspective and prospective*. Curr Pharm Biotechnol, 2013. **14**(15): p. 1242-9.
44. Uzzan, B., et al., *Procalcitonin as a diagnostic test for sepsis in critically ill adults and after surgery or trauma: a systematic review and meta-analysis*. Crit Care Med, 2006. **34**(7): p. 1996-2003.
45. Wunder, C., O. Eichelbronner, and N. Roewer, *Are IL-6, IL-10 and PCT plasma concentrations reliable for outcome prediction in severe sepsis? A comparison with APACHE III and SAPS II*. Inflamm Res, 2004. **53**(4): p. 158-63.
46. Opal, S.M., et al., *Relationship between plasma levels of lipopolysaccharide (LPS) and LPS-binding protein in patients with severe sepsis and septic shock*. J Infect Dis, 1999. **180**(5): p. 1584-9.
47. Danner, R.L., et al., *Endotoxemia in human septic shock. 1991*. Chest, 2009. **136**(5 Suppl): p. e30.
48. van Deventer, S.J., et al., *Endotoxaemia: an early predictor of septicaemia in febrile patients*. Lancet, 1988. **1**(8586): p. 605-9.
49. Opal, S.M. and R.L. Yu, Jr., *Antiendotoxin strategies for the prevention and treatment of septic shock. New approaches and future directions*. Drugs, 1998. **55**(4): p. 497-508.
50. Levin, J. and F.B. Bang, *Clottable protein in Limulus; its localization and kinetics of its coagulation by endotoxin*. Thromb Diath Haemorrh, 1968. **19**(1): p. 186-97.

51. Elin, R.J., et al., *Lack of clinical usefulness of the limulus test in the diagnosis of endotoxemia*. N Engl J Med, 1975. **293**(11): p. 521-4.
52. Devleeschouwer, M.J., M.F. Cornil, and J. Dony, *Studies on the sensitivity and specificity of the Limulus ameobocyte lysate test and rabbit pyrogen assays*. Appl Environ Microbiol, 1985. **50**(6): p. 1509-11.
53. Kolb-Bachofen, V., *A review on the biological properties of C-reactive protein*. Immunobiology, 1991. **183**(1-2): p. 133-45.
54. Gewurz, H., et al., *C-reactive protein and the acute phase response*. Adv Intern Med, 1982. **27**: p. 345-72.
55. Pepys, M.B., *C-reactive protein fifty years on*. Lancet, 1981. **1**(8221): p. 653-7.
56. Palosuo, T., et al., *C-reactive protein in population samples*. Acta Med Scand, 1986. **220**(2): p. 175-9.
57. Young, B., M. Gleeson, and A.W. Cripps, *C-reactive protein: a critical review*. Pathology, 1991. **23**(2): p. 118-24.
58. Mathony, U., et al., *Optimal maximum tracking rate of dual-chamber pacemakers required by children and young adults for a maximal cardiorespiratory performance*. Pacing Clin Electrophysiol, 2005. **28**(5): p. 378-83.
59. Bohley, S., et al., *Changes of individual perception in psychosocial stressors related to German reunification in 1989/1990 and cardiovascular risk factors and cardiovascular diseases in a population-based study in East Germany*. BMJ Open, 2016. **6**(1): p. e008703.
60. Imöhl, M., *Labormedizin Pocket*. Vol. 2. 2005, Grünwald: Börm Bruckmeier Verlag GmbH.
61. Baum, K.T., et al., *Sleep restriction worsens mood and emotion regulation in adolescents*. J Child Psychol Psychiatry, 2014. **55**(2): p. 180-90.
62. Al-Salamah, S.M., et al., *Suture versus mesh repair for incisional hernia*. Saudi Med J, 2006. **27**(5): p. 652-6.
63. Demasi, M., et al., *Redox regulation of the proteasome via S-glutathionylation*. Redox Biol, 2014. **2**: p. 44-51.
64. H. G. Wahl, I.H., H. Renz, *Sepsis und Sepsismarker – Update*. LaboratoriumsMedizin, June 2005. **Band 27, Heft 11/12** p. 431–439.
65. Chen, X., et al., *2-Bromopalmitate modulates neuronal differentiation through the regulation of histone acetylation*. Stem Cell Res, 2014. **12**(2): p. 481-91.
66. Hall, Z.J., et al., *Site-specific regulation of adult neurogenesis by dietary fatty acid content, vitamin E and flight exercise in European starlings*. Eur J Neurosci, 2014. **39**(6): p. 875-82.
67. Phillips, N.B., L.S. Fuchs, and D. Fuchs, *Effects of classwide curriculum-based measurement and peer tutoring: a collaborative researcher-practitioner interview study*. J Learn Disabil, 1994. **27**(7): p. 420-34.
68. Zangerle, R., et al., *Tumor necrosis factor alpha and soluble tumor necrosis factor receptors in individuals with human immunodeficiency virus infection*. Immunol Lett, 1994. **41**(2-3): p. 229-34.
69. Fuchs, D., et al., *Cyclosporin for erythropoietin resistance*. Lancet, 1994. **343**(8907): p. 1231.
70. *Film criticism, the Cold War, and the blacklist: reading the Hollywood Reds*. Choice: Current Reviews for Academic Libraries, 2014. **52**(4): p. 618-619.
71. Meisner, M., et al., *Postoperative plasma concentrations of procalcitonin after different types of surgery*. Intensive Care Med, 1998. **24**(7): p. 680-4.
72. Massel, D., J.B. Gill, and J.A. Cairns, *Management of the patient following coronary thrombolysis*. Clin Cardiol, 1990. **13**(9): p. 591-609.
73. Al-Nawas B, K.I., Shah PM, *Procalcitonin in diagnosis of severe infections*. Eur J Med Res, 1996. **1:331–333**.
74. Assicot M, G.D., Carsin H, Raymond J, Guilbaud J, Bohuon C, *High serum procalcitonin concentration in patients with sepsis and infection*. Lancet., 1993. **341: 515–518**.
75. Brunkhorst FM, F.Z., Wagner J, *Procalcitonin immunoreactivity in severe human shock*. Intensive Care Med, 1995. **21 [Suppl] 1:12**.

76. Meisner M, T.K., Beier W, Schüttler J, *Procalcitonin (PCT) ein neuer Parameter zur Diagnose und Verlaufskontrolle von bakteriellen Entzündungen und Sepsis*. Anaesthesiol Intensivmed, 1996. **37**:529–539.
77. Monneret G, L.J., Isaac C, Bienvenu F, Putet G, Bienvenu J, *Procalcitonin and C-reactive protein levels in neonatal infections*. Acta Paediatr, 1997. **86**:209–212.
78. Gill, J.C., *Comment on "Size effects and charge-density-wave pinning in NbSe3"*. Phys Rev Lett, 1990. **65**(2): p. 271.
79. Anderson, C.L., et al., *Phagocytosis mediated by three distinct Fc gamma receptor classes on human leukocytes*. J Exp Med, 1990. **171**(4): p. 1333-45.
80. Janda, S., et al., *The effect of statins on mortality from severe infections and sepsis: a systematic review and meta-analysis*. J Crit Care, 2010. **25**(4): p. 656 e7-22.
81. MARNITZ, R., GRAMM, H. J., ZIMMERMANN, J., *ELABORATION OF MEDIATORS OF INFLAMMATORY RESPONSE AFTER MAJOR SURGERY*. Shock, 1997. **7**: p. 124.
82. Dunskey, A., et al., *Home-based motor imagery training for gait rehabilitation of people with chronic poststroke hemiparesis*. Arch Phys Med Rehabil, 2008. **89**(8): p. 1580-8.
83. Brugger-Andersen, T., et al., *Moderate alcohol consumption is associated with reduced long-term cardiovascular risk in patients following a complicated acute myocardial infarction*. Int J Cardiol, 2009. **133**(2): p. 229-32.
84. Nia, A.M., et al., *Terry's nails: a window to systemic diseases*. Am J Med, 2011. **124**(7): p. 602-4.
85. Pang, S.C. and J.S. Gill, *Multi-drug resistant tuberculosis in migrants*. Aust N Z J Med, 1991. **21**(4): p. 457-9.
86. Gill, J., P. Dandona, and J.Y. Jeremy, *Indomethacin and ibuprofen inhibit the uptake of $^{45}\text{Ca}^{2+}$ by washed human platelets through a thromboxane A2-independent mechanism*. Eur J Pharmacol, 1990. **187**(1): p. 135-8.
87. Menzies, S.A., et al., *The effect of tranexamic acid on bleeding time and haemostasis*. Neurochirurgia (Stuttg), 1991. **34**(5): p. 141-3.
88. Schmeck, B., et al., *Histone acetylation and flagellin are essential for Legionella pneumophila-induced cytokine expression*. J Immunol, 2008. **181**(2): p. 940-7.
89. Morawietz, L., et al., *Gene expression in endoprosthesis loosening: chitinase activity for early diagnosis?* J Orthop Res, 2008. **26**(3): p. 394-403.
90. Pisetsky, D.S., H. Erlandsson-Harris, and U. Andersson, *High-mobility group box protein 1 (HMGB1): an alarmin mediating the pathogenesis of rheumatic disease*. Arthritis Res Ther, 2008. **10**(3): p. 209.
91. Alleva, L.M., A.C. Budd, and I.A. Clark, *Systemic release of high mobility group box 1 protein during severe murine influenza*. J Immunol, 2008. **181**(2): p. 1454-9.
92. Tobias, P.S., K. Soldau, and R.J. Ulevitch, *Isolation of a lipopolysaccharide-binding acute phase reactant from rabbit serum*. J Exp Med, 1986. **164**(3): p. 777-93.
93. Schumann, R.R., et al., *Structure and function of lipopolysaccharide binding protein*. Science, 1990. **249**(4975): p. 1429-31.
94. Ulevitch, R.J. and P.S. Tobias, *Recognition of gram-negative bacteria and endotoxin by the innate immune system*. Curr Opin Immunol, 1999. **11**(1): p. 19-22.
95. Froon, A.H., et al., *Lipopolysaccharide toxicity-regulating proteins in bacteremia*. J Infect Dis, 1995. **171**(5): p. 1250-7.
96. Zweigner, J., et al., *High concentrations of lipopolysaccharide-binding protein in serum of patients with severe sepsis or septic shock inhibit the lipopolysaccharide response in human monocytes*. Blood, 2001. **98**(13): p. 3800-8.
97. Grube, B.J., et al., *Lipopolysaccharide binding protein expression in primary human hepatocytes and HepG2 hepatoma cells*. J Biol Chem, 1994. **269**(11): p. 8477-82.
98. Gallay, P., et al., *Lipopolysaccharide (LPS)-binding protein in human serum determines the tumor necrosis factor response of monocytes to LPS*. J Infect Dis, 1994. **170**(5): p. 1319-22.
99. Fenton, M.J. and D.T. Golenbock, *LPS-binding proteins and receptors*. J Leukoc Biol, 1998. **64**(1): p. 25-32.

100. Berczi, I., *Neurohormonal host defense in endotoxin shock*. Ann N Y Acad Sci, 1998. **840**: p. 787-802.
101. Lavery, R.F., et al., *The utility of venous lactate to triage injured patients in the trauma center*. J Am Coll Surg, 2000. **190**(6): p. 656-64.
102. Tiller, D., et al., *Association of serum TSH with anthropometric markers of obesity in the general population*. Thyroid, 2016.
103. Zhou, Q., et al., *Diagnostic value of N-terminal pro-brain natriuretic peptide for pleural effusion due to heart failure: a meta-analysis*. Heart, 2010. **96**(15): p. 1207-11.
104. Janda, S. and J. Swiston, *Diagnostic accuracy of pleural fluid NT-pro-BNP for pleural effusions of cardiac origin: a systematic review and meta-analysis*. BMC Pulm Med, 2010. **10**: p. 58.
105. Dickstein, K., et al., *ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2008: the Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2008 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association of the ESC (HFA) and endorsed by the European Society of Intensive Care Medicine (ESICM)*. Eur Heart J, 2008. **29**(19): p. 2388-442.
106. Gassanov, N., et al., *[Natriuretic peptides in the therapy of acute decompensated heart failure]*. Dtsch Med Wochenschr, 2011. **136**(34-35): p. 1738-43.
107. Werner, E.R., et al., *Tetrahydrobiopterin biosynthetic activities in human macrophages, fibroblasts, THP-1, and T 24 cells. GTP-cyclohydrolase I is stimulated by interferon-gamma, and 6-pyruvoyl tetrahydropterin synthase and sepiapterin reductase are constitutively present*. J Biol Chem, 1990. **265**(6): p. 3189-92.
108. Werner, E.R., et al., *Determination of neopterin in serum and urine*. Clin Chem, 1987. **33**(1): p. 62-6.
109. Mayersbach, P., et al., *Commercial enzyme-linked immunosorbent assay for neopterin detection in blood donations compared with RIA and HPLC*. Clin Chem, 1994. **40**(2): p. 265-6.
110. Schroecksnadel, K., C. Winkler, and D. Fuchs, *Method for urinary neopterin measurements by HPLC*. J Biochem Biophys Methods, 2006. **66**(1-3): p. 99-100.
111. Fuchs, D., et al., *Neopterin--its clinical use in urinalysis*. Kidney Int Suppl, 1994. **47**: p. S8-11.
112. Werner-Felmayer, G., et al., *Neopterin formation and tryptophan degradation by a human myelomonocytic cell line (THP-1) upon cytokine treatment*. Cancer Res, 1990. **50**(10): p. 2863-7.
113. Denz, H., et al., *Value of urinary neopterin in the differential diagnosis of bacterial and viral infections*. Klin Wochenschr, 1990. **68**(4): p. 218-22.
114. Ruokonen, E., et al., *Procalcitonin and neopterin as indicators of infection in critically ill patients*. Acta Anaesthesiol Scand, 2002. **46**(4): p. 398-404.
115. Reibnegger, G., et al., *Posttransplant neopterin excretion in renal allograft recipients--a reliable diagnostic aid for acute rejection and a predictive marker of long-term graft survival*. Transplantation, 1991. **52**(1): p. 58-63.
116. Chin, G.K., et al., *The value of serum neopterin, interferon-gamma levels and interleukin-12B polymorphisms in predicting acute renal allograft rejection*. Clin Exp Immunol, 2008. **152**(2): p. 239-44.
117. Wirleitner, B., et al., *Monocyte-derived dendritic cells release neopterin*. J Leukoc Biol, 2002. **72**(6): p. 1148-53.
118. Werner-Felmayer, G., et al., *Tumour necrosis factor-alpha and lipopolysaccharide enhance interferon-induced tryptophan degradation and pteridine synthesis in human cells*. Biol Chem Hoppe Seyler, 1989. **370**(9): p. 1063-9.
119. Werner-Felmayer, G., et al., *Tetrahydrobiopterin-dependent formation of nitrite and nitrate in murine fibroblasts*. J Exp Med, 1990. **172**(6): p. 1599-607.
120. Kumar, A., et al., *Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock*. Crit Care Med, 2006. **34**(6): p. 1589-96.
121. A., J., *"Therapeutische Versuche bei Syphilis"*. Wien Med Wochenschr., 1895. **45**: p. 721-42.

122. Herxheimer, K., Krause, D., "Ueber eine bei Syphilitischen vorkommende Quecksilberreaktion" Deutsch Med Wochenschr., 1902. **28 (50)**: p. 895-7.
123. Galloway, R.E., et al., *Activation of protein mediators of inflammation and evidence for endotoxemia in Borrelia recurrentis infection*. Am J Med, 1977. **63(6)**: p. 933-8.
124. Fekade, D., et al., *Prevention of Jarisch-Herxheimer reactions by treatment with antibodies against tumor necrosis factor alpha*. N Engl J Med, 1996. **335(5)**: p. 311-5.
125. Kollef, M.H., et al., *Inadequate antimicrobial treatment of infections: a risk factor for hospital mortality among critically ill patients*. Chest, 1999. **115(2)**: p. 462-74.
126. Mock, C.N., et al., *Clinical significance of antibiotic endotoxin-releasing properties in trauma patients*. Arch Surg, 1995. **130(11)**: p. 1234-40; discussion 1240-1.
127. Simpson, A.J., et al., *Differential antibiotic-induced endotoxin release in severe melioidosis*. J Infect Dis, 2000. **181(3)**: p. 1014-9.
128. Lepper, P.M., et al., *Clinical implications of antibiotic-induced endotoxin release in septic shock*. Intensive Care Med, 2002. **28(7)**: p. 824-33.
129. Marshall, J.C., et al., *Diagnostic and prognostic implications of endotoxemia in critical illness: results of the MEDIC study*. J Infect Dis, 2004. **190(3)**: p. 527-34.
130. Knaus, W.A., et al., *APACHE II: a severity of disease classification system*. Crit Care Med, 1985. **13(10)**: p. 818-29.
131. Knaus, W.A., et al., *Evaluating outcome from intensive care: a preliminary multihospital comparison*. Crit Care Med, 1982. **10(8)**: p. 491-6.
132. Knaus, W.A., et al., *The APACHE III prognostic system. Risk prediction of hospital mortality for critically ill hospitalized adults*. Chest, 1991. **100(6)**: p. 1619-36.
133. Swets, J.A., *Signal detection and recognition by human observers*. 1964, New York.
134. Dunham, C.M., M.H. Fealk, and W.E. Sever, 3rd, *Following severe injury, hypocholesterolemia improves with convalescence but persists with organ failure or onset of infection*. Crit Care, 2003. **7(6)**: p. R145-53.
135. Iribarren, C., et al., *Cohort study of serum total cholesterol and in-hospital incidence of infectious diseases*. Epidemiol Infect, 1998. **121(2)**: p. 335-47.
136. Dunham, C.M. and T.J. Chirichella, *Attenuated hypocholesterolemia following severe trauma signals risk for late ventilator-associated pneumonia, ventilator dependency, and death: a retrospective study of consecutive patients*. Lipids Health Dis, 2011. **10**: p. 42.
137. Bauer, M., Maus, U.A., Slevogt, H., , *Regulation der Cholesterolsynthese als spezifische adaptive Wirtsreaktion in murinen Sepsismodellen*. 2014: p. 96-97.